LIBRARY

Tom II. 1922. Zeszyt III.

PRZEGLĄD EPIDEMJOLOGICZNY

THE ROCKEFELLER INSTITUTE
LIBRARY
MAR 13 1923
FOR MEDICAL RESEARCH

WYDAWANY PRZEZ

PAŃSTWOWY ZAKŁAD EPIDEMJOLOGICZNY

MINISTERSTWA ZDROWIA PUBLICZNEGO.

REDAKCJA I ADMINISTRACJA: CHOCIMSKA 2b. (daw. Langnerowska). Tel. 243-84.

PRENUMERATA ZA TOM 50 ARKUSZ. 15.000 Mk. ROCZNIE.
CENA POJEDYŃCZEGO ZESZYTU 300 Mk. ZA ARKUSZ DRUKU

WARSZAWA.

REGULAMIN

ogłaszania prac w „Przeglądzie Epidemjologicznym"

1) „Przegląd Epidemjologiczny" zamieszcza prace oryginalne oraz streszczenia zbiorowe i referaty z dziedziny epidemjologji, bakterjologji, serologji i działów pokrewnych.

2) Prace należy nadsyłać pod adresem Państwowego Zakładu Epidemjologicznego:

Warszawa Chocimska 2b (dawn. Langnerowska).

3) „Przegląd Epidemjologiczny" pojawiać się będzie w terminach dowolnych w objętości 50 arkuszy druku rocznie.

4) Prace, przyjęte do druku, umieszczane będą w porządku napływania rękopisów, przyczem kolejność prac w poszczególnych numerach określa redakcja; dla prac nadchodzących pocztą za datę otrzymania uważaną będzie data wysłania.

5) Redakcja prosi o nadsyłanie prac pisanych po jednej stronie na maszynie lub bardzo czytelnie, z pozostawieniem marginesu i wolnego miejsca przed tytułem dla notat redakcyjnych.

6) Autorowie proszeni są o dołączanie do swych prac streszczeń w jednym z języków obcych (angielskim, francuskim, niemieckim).

7) Nadsyłane prace powinny być starannie wykończone, aby uniknąć znacznych zmian w korektach (znaczne zmiany poczynione w korektach opłacane będą na koszt autora).

8) Tablice barwne i fotografje mogą być wykonywane w wyjątkowych tylko przypadkach z funduszów wydawnictwa.

9) Redakcja prosi o dokładne podawanie bibliografji przy końcu prac pod tytułem „Piśmiennictwo". Dane bibliograficzne zawierać winny nazwisko i inicjały autora, tytuł dzieła lub pisma oraz dla artykułów rok, tom i stronnicę, zaś dla dzieł ilość stronnic, nazwisko wydawcy, miejsce wydania i rok wydania (n. p. Nicolle Ch. Typhus exanthématique Bull. Pasteur 1920, XVIII, 49) — albo „Kruse W. Allgemeine Mikrobiologie" 1184 str. F. Vogel. Lipsk 1910 r. Inaczej podana bibliografja nie będzie uwzględniana.

10) Celem uniknięcia zwłoki korekty będą przesyłane autorom pozamiejscowym tylko na specjalne żądanie, lub o ile redakcja uzna to za konieczne.

11) Autorowie otrzymują po 25 odbitek swych prac na koszt wydawnictwa.

PRZEGLĄD EPIDEMJOLOGICZNY

TOM II. 1922. ZESZYT 3.

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Warszawie
(Dyrektor Dr. L. Rajchman)

Znaczenie stężenia jonów wodorowych ($H^{\cdot}$), ilości pokarmu i stosunku powierzchni hodowli do jej objętości w rozwoju wiciowca *Prowazekia (=Bodo) edax.*

P o d a ł

Dr. HENRYK RAABE

Docent Uniwers. Jagiellońskiego w Krakowie.

Praca ta wykonana była w Państw. Zakładzie Epidemjol. w Warszawie w związku z czynionemi próbami hodowli pierwotniaków pasorzytniczych *in vitro*. Trudności, jakie się napotyka w takich hodowlach, łączą się z brakiem bliższych danych, dotyczących zależności rozwoju pierwotniaków od warunków otoczenia. Studja w tej dziedzinie są stosunkowo nieliczne.

Celem tej pracy było zanalizowanie, możliwie dokładne, wpływu przynajmniej niektórych czynników na rozwój pierwotniaków, a w pierwszym rzędzie s t ę ż e n i a j o n ó w w o d o r o w y c h. Praca ta dostarczyła również pewnych wskazówek, dotyczących znaczenia pokarmu, stosunku między wielkością powierzchni hodowli a jej objętością, wreszcie znaczenia temperatury.

Do badań wybrany został przedmiot dogodny i stosunkowo łatwy do hodowania, wiciowiec *Prowazekia edax*, żyjący swobodnie w wodach słodkich. Pierwotniak ten zbliżony jest przytem, pod względem morfologicznym i systematycznym, do wielkiej grupy wiciowców pasorzytniczych, które *Hartmann* obejmuje nazwą *Binucleata*.

Praca zainicjowana była początkowo przezemnie i kol. *dr. L. Anigsteina*. W dalszym ciągu *dr. Anigstein* przeszedł do badań serologicznych nad *Prowazekia* (*Anigstein* 1921). Zakres badań nad znaczeniem środowiska dla hodowli *Prowazekia* pozostał wyłącznie do mego rozporządzenia. Wiele jednak myśli poświęciliśmy wspólnie omawianemu tu zagadnieniu.

Badania wykonane były w ciągu półtora roku, 1920 — 1921. Muszę tu podkreślić jeden moment, który utrudniał w dużej mierze prowadzenie

doświadczeń; były to warunki, wynikające z obowiązków, jakie ciążyły na autorze tej pracy, jako na docencie Uniw Jagiellońskiego, mieszkającym w Warszawie. Przerwy w doświadczeniach, powodowane stałemi jazdami z Warszawy do Krakowa na wykłady, utrudniały w znacznej mierze pracę.

Wiciowiec, użyty do doświadczeń, posiada następujące właściwości, które charakteryzują go, jako *Prowazekia edax* (*Kühn 1915, Doflein 1916*). Jest to pierwotniak gruszkowatego kształtu, wielkości przeciętnej 8 — 12 μ na długość, 5 — 7 μ na szerokość, z wyraźnym zagiętym dziobkiem na przednim końcu ciała. Z nasady dziobka wybiegają 2 witki; jedna krótsza, dłuższa jednak, niż długość ciała, którą wiciowiec, posuwając się, wykonywa ruchy przed sobą i druga dłuższa, którą ciągnie zazwyczaj za sobą. Witka dłuższa posiada własność przylepiania się swym końcem do podłoża; wywołuje to charakterystyczny dla *Prowazekia* ruch drżący, który umożliwia poznanie tego pierwotniaka na pierwszy rzut oka. Zdolność witki dłuższej do przylepiania się jest szczególniej korzystna podczas wykonywania preparatów trwałych z *Prowazekia*, gdyż pierwotniaki te, zabijane sublimatem, z łatwością przylepiają się do szkiełka.

W plazmie wiciowca widzimy w przedniej części kilka wodniczek, w tylnej zaś części bakterje, pobrane jako pokarm, i drobne ziarenka. Bliżej ku przedniej części znajduje się duże karjosomowe jądro i przed nim, za życia bardzo słabo widoczny, duży blefaroplast. Wielkość jądra w osobnikach średniej miary, w średnicy 3 — 4 μ, blefaroplastu 2 — 3 μ. Na preparatach utrwalonych, u nasady witek można dostrzec dwa ziarenka, barwiące się metodą *Giemzy* na karminowo; są to t. zw. ziarenka podstawowe. Wygląd i właściwości wiciowca, użytego do tych doświadczeń, odpowiadają w zupełności opisowi i rysunkom, podanym dla *Prowazekia edax* przez *Kühna* (1915).

Kühn zaznacza ponadto, że oprócz form wielkości przeciętnej, występują też formy karłowate, mogące mieć na długość 5 — 8 μ. Obserwację tę można najzupełniej potwierdzić, dodać jednak trzeba, że występować też mogą formy wielkości 25 — 30 μ na długość, a nawet większe. Formy tej wielkości są w naturze rzadkie, w hodowlach mych występowały w pewnych warunkach w obfitości. Zmienność w wielkości osobników w hodowlach, wziętych z natury, jest zazwyczaj znaczna i uderzająca; zazwyczaj współcześnie występują postacie wielkie i karłowate. W hodowlach *Prowazekia* z jednego osobnika, zmienność taka, w niezmieniających się warunkach, nigdy nie występuje, natomiast w hodowlach, różniących się znacznie warunkami, sięga większych jeszcze granic.

Systematyczne stanowisko *Prowazekia edax* traktuje nieco inaczej *Doflein* (1916), nieco inaczej *Hartmann* (1917). Według *Dofleina*, rodzaj *Bodo* (= *Prowazekia*), wraz z rodzajem *Trypanoplasma* stanowi podrodzinę *Bodoninae* (*Bütschli*), a ta znów, razem z drugą, wielką podrodziną *Trypanosominae*, tworzy rodzinę *Herpetomonadidae*. W systematyce *Hartmanna* rodzaj *Prowazekia* z rodzajem *Trypanoplasma* tworzy rodzinę *Trypanoplasmidae*, równorzędną do kilku jeszcze innych rodzin, jak *Trypanosomidae, Piroplasmidae, Halteridiidae* i inne i tworzy wraz z niemi

jeden rząd *Binucleata*; cechą wspólną *Binucleata* jest posiadanie blefaroplastu. Zarówno w grupie wiciowców, które *Doflein* uważa za najbliżej pokrewne *Prowazekia*, jak i w grupie, w obrębie której stawia *Prowazekia Hartmann*, jest to jedyny rodzaj, zawierający formy niepasorzytnicze, w samym zaś rodzaju *Prowazekia*, jedynym gatunkiem, którego sposób życia niepasożytniczy został napewno stwierdzony, jest *Prowazekia edax*; mamy tu ponadto kilka gatunków, o prawdopodobnym sposobie życia pasorzytniczym, jak *Prowazekia urinaria* w moczu ludzkim, *Prowazekia asiatica* w przewodzie pokarmowym człowieka i inne.

Wszystkie hodowle, wyhodowane podczas doświadczeń, pochodziły od j e d n e g o o s o b n i k a *Prowazekia edax*, odosobnionego w dn. 22 grudnia r. 1920. Odosobnienie poprzedzone zostało próbami hodowli *Prowazekia*, wziętych wprost z akwarjów, na różnych płynnych pożywkach; bardzo intensywnie rozmnażały się one na buljonie końskim, przygotowywanym stale w Zakładzie Epidemjologicznym do pożywek bakteryjnych, w rozcieńczeniu 5 części tego buljonu na 95 części wody wodociągowej (jest to wyciąg z 500 gr. mięsa końskiego w 1 litrze wody z 1—2% peptonu).

Odosobnienie dokonane zostało w ten sposób, że cienką włoskowatą pipetką przeniosłem szereg kropli, minimalnej wielkości, z hodowli, zawierającej prawie wyłącznie *Prowazekia*, na połamane i wysterylizowane w płomieniu ułamki szkiełka przykrywkowego. Po stwierdzeniu pod mikroskopem, że w kropli rzeczywiście znajdował się jeden osobnik *Prowazekia* i ponadto nie było żadnego innego pierwotniaka, szkiełko wraz z kroplą rzucone zostało do naczynia z 5%-ym buljonem na wodzie wodociągowej, sterylizowanej. Wraz z wiciowcem, przeniesione zostało nieco bakteryj, które też rozmnażały się i służyły wiciowcom za pokarm. Na 200 prawie hodowli, które odszczepiłem później od hodowli pierwotnej i jej pochodnych, zaledwie w kilku razach wystąpiło zanieczyszczenie obcemi gatunkami drobnych wiciowców z rodzaju *Monas* i amebami; tych kilka hodowli zostało odrazu z doświadczenia usuniętych; pozatem hodowle były stale zupełnie czyste.

Bakterje, które się rozwijały w hodowlach, były to ziarniaki z niewielką domieszką laseczek. Wielokrotne wysiewanie bakteryj na agarze z buljonem, dokonywane w ten sposób, że kropla z hodowli z wiciowcami była rozcierana bagietką na płytce *Petriego* z agarem, dało pokrycie całego agaru licznemi drobnemi, perełkowatemi kolonjami ziarniaków z domieszką około 5%, bądź mniej, kolonij laseczek. Pomimo wielokrotnego przeszczepiania wiciowców z hodowli, w których laseczek niemal już nie było, nie udało mi się doprowadzić do zupełnego ich usunięcia, jakkolwiek ilość laseczek w późniejszych doświadczeniach stała się niemal znikoma. Zresztą metoda, jaką musiałem się tutaj posługiwać, częstego mieszania otwierania hodowli, stykanie się jej przez zatyczkę w butelce z otoczeniem, uniemożliwiało utrzymanie hodowli na jednym gatunku bakteryj. Hodowle *Prowazekia edax* zakładane były i prowadzone w następujący sposób. Jako naczynie służyły butelki płaskie, z dnem o powierzchni 5 × 11 = 55 cm², wysokości 25 cm., z szyjką o średnicy 2 cm. Zamykane były zatyczką z waty. Trzymane były w pozycji stojącej i zawierały wtedy,

zależnie od doświadczenia, od 500 do 25 cm^3 płynu, albo w pozycji leżące na płasko i wtedy zawierały 50 albo 25 cm^3. Hodowle trzymane były albo w termostacie, zamkniętym, ciemnym, w stałej temp. 20 — 21°C albo w ciemnem miejscu na stole, zawsze tem samem, w zmiennej temperaturze 15°C—18°C, albo wreszcie w chłodni, w temp. + 6°C. Jako pożywka, brany był wspomniany już poprzednio buljon, w rozcieńczeniu sterylizowaną wodą wodociągową początkowo 5%-em, później różnem, łącznie do 100%-ego i wyżej (pr. szczegóły str 305). Pożywka służyła drogą pośrednią (o ile pominiemy możliwość odżywiania się *Prowazekia* przez osmozę) wiciowcom; od jej stężenia zależała ilość bakteryj w hodowli. W naszych doświadczeniach zwiększanie się ilości bakteryj w miarę zgęszczania buljonu było dokładnie widoczne; podczas gdy pożywki silnie rozcieńczone zawierały ledwie ślady bakteryj, pożywki stężone były niemi wypełnione. Do każdej serji doświadczeń używany był buljon, zrobiony tego samego dnia.

Buljon był rozcieńczany zawsze sterylizowaną wodą wodociągową. Butelki, jak również wszystkie używane przyrządy, były zawsze dokładnie sterylizowane. Na początku każdego doświadczenia było ściśle określane i ustalane stężenie jonów wodorowych. Celem doprowadzenia kwasowości bądź zasadowości pożywki do pożądanego poziomu, pożywka była zakwaszana kroplami stężonego kw. solnego albo alkalizowana ługiem sodowym. Wiciowce przy zakładaniu nowych hodowli, brane były zawsze ze starych, mniej więcej jednakowych, 5—6-cio dniowych, rozwijających się na 5—10%-ym buljonie.

Świeże hodowle zaszczepiane były w ten sposób, że przedewszystkiem w starej hodowli oznaczana była zapomocą hematocytometru ilość wiciowców w 1 mm^3; następnie wysteryliżowaną pipetką kalibrowaną bądź pipetką zwykłą przelewałem tyle $cm.^3$ albo kropli ze starej hodowli do nowej, żeby w nowej, przy rozcieńczeniu na pożądaną ilość płynu, mieć określoną ilość wiciowców, zazwyczaj 15 w 1 mm^3, czasem $7^1/_2$ albo 30.

Intensywność rozrodu hodowli mierzona była ilością osobników w 1 mm^3 płynu, w kolejnych dniach doświadczenia. Obrachunek był robiony stale o tej samej porze dnia, co 24 godziny. Ażeby wyrównać zagęszczenie wiciowców w hodowli, płyn w butelce był kilkakronie kłócony, zawsze w jednakowy sposób i, wysterylizowaną w płomieniu pipetką, brana była z niego kropla. Kropla taka wystarczała, aby wypełnić przestrzeń pod szkiełkiem przykrywkowem w hematocytometrze. Przez szybkie przeprowadzenie hematocytometru nad płomieniem lampki spirytusowej, zabijane zostawały wiciowce, które opadały na podziałkę. Zwykły obrachunek, stosowany przy liczeniu czerwonych ciałek, pozwalał na wyciągnięcie potrzebnych wniosków. Liczenie takie dokonywane było za każdym razem, dla każdej hodowli 2 albo 3 razy i jako ostateczny wynik brana była liczba przeciętna.

Stężenie jonów wodorowych było określane metodą kolorymetryczną; jako wskaźnika używałem początkowo paranitrophenolu. Określenie tego stężenia tą metodą było utrudnione, gdyż wymagała ona dość znacznej

ilości płynu, mianowicie za każdym razem 20 cm^3; i ta ilość zwiększała się jednak w praktyce znacznie. Ażeby usunąć wpływ wiciowców i bakteryj na wynik, każdą próbkę wirowałem przy 4000 obrotów na sek. przez 10—15 min; oprócz tego, dla porównania robiłem zawsze próbę z czerwienią obojętną. Na jednorazowy pomiar potrzeba więc było razem koło 50 $cm.^3$ Wobec tego, że rozwój hodowli, które badałem w ten sposób, trwał koło 3 tygodni, trzeba było zużyć do 1 litra płynu. Doświadczenie zorganizowano w ten sposób, że założono równocześnie 10 hodowli po 250 $cm.^3$ płynu w każdej. Płyny te były codziennie ze sobą mieszane i brane z nich były próbki do pomiarów. Doświadczenia *a* i *b* z Serji I-ej wskazują, że takie operacje nie wpływają zasadniczo na intensywność rozrodu wiciowców.

W drugiej połowie mej pracy, w określaniu stężenia jonów H· korzystałem z uprzejmej pomocy p. *Jabłońskiego*, laboranta Zakładu, który dla celów zakładowych i w związku z pracami, jakie wykonywał równocześnie w Zakładzie D-r *Sierakowski*, oznaczał bardzo dokładnie codziennie stężenie jonów H· w znacznej ilości hodowli. Do oznaczania Ph. służyły czerwień metylowa, czerw. bromo-krezolowa, czerw. fenolowa i błękit tymolowy; odbywało się ono z pomocą komparatora *Walpola* (pr. opis metody: *Sierakowski* 1921). Metoda stosowana umożliwiała robienia pomiarów Ph., przy zużyciu 1 albo kilku cm^3 płynu, co ułatwiało pracę.

Znaczenie kwasowości bądź zasadowości środowiska dla rozwoju pierwotniaków opracowywane było przez szereg badaczy, jak: *Bokorny* (1896), *Barrat* (1904), *Peters* (1906 — 08), *Prowazek* (1910) i inni. Autorzy ci wykazywali wpływ różnych kwasów i zasad na pierwotniaki oraz granice rozcieńczeń, w których żyć one mogą. *Peters* doszedł do wniosku, że kolejne występowanie pewnych gatunków pierwotniaków w hodowli zależy przedewszystkiem od zmiany w kwasowości ew. zasadowości środowiska. Metoda pomiarów Ph w hodowlach pierwotniaków swobodnie żyjących, o ile sądzić mogę z dostępnej literatury, nie była dotąd stosowana. W pracach nad hodowlą pierwotniaków pasorzytniczych *in vitro* istnieją liczne wskazówki, dotyczące znaczenia kwasowości albo alkaliczności środowiska. Pomiarów Ph dokonywał *Ponselle* (1920), który wykazuje, że optimum, przy którem najszybciej następuje podział *Trypanosoma rotatorium*, hodowanego *in vitro*, wynosi Ph = 6·2.

Dla różnych gatunków bakteryj szereg autorów, jak *Jordan Lloyd*, *Cole*, *Fennel* i *Fisher*, *Dernby* i inni wskazali optima Ph i granice Ph., w których mogą bakterje te rosnąć. Ważny przyczynek do analizy tych stosunków stanowi praca *Sierakowskiego* (1922), w której autor dochodzi do wniosku, że „bakterje podczas swego wzrostu wytwarzają taką koncentrację jonów wodorowych, która jest dla danego gatunku bakteryj optymalną", a dopiero, po wytworzeniu tego stężenia najkorzystniejszego, następuje stopniowe alkalizowanie pożywki.

Na znaczenie stężenia jonów H· w obrębie tkanek organizmów wielokomórkowych, a w szczególności człowieka, wskazały liczne doświadczenia *Sörensena* i innych badaczów. Wiemy dziś, że działanie zaczynów

jest zależne od stężenia jonów H', że stężenie to we krwi jest stałe i że organizm posiada zdolność regulowania tego stężenia.

W stosunku do *Prowazekia edax* zagadnienie pracy sprowadzało się do kwestyj: 1) w jakich granicach kwasowości i zasadowości środowiska — wobec takich samych innych warunków — żyć mogą i rozmnażać się *Prowazekia*; 2) jakie jest optimum Ph dla danego gatunku; 3) jak zmiana i różnice w stężeniu Ph wpływają na intensywność rozrodu wiciowca i na jego właściwości biologiczne i morfologiczne.

W hodowlach *Prowazekia edax* stan Ph zależał od wpływu produktów przemiany materji pierwotniaków i bakteryj. W pierwszych 8 serjach wpływ tych dwóch czynników jest omawiany razem; w Serji IX-ej zrobiona jest próba ich rozgraniczenia.

Serja I stanowiła doświadczenia wstępne. Obejmowała ona 4 hodowle, z których trzy (*a*, *c*, *d*) trzymane były w pojedyńczych naczyniach, zaś jedna (*b*) była wspomnianą już wyżej hodowlą, hodowaną równocześnie w 8 naczyniach. Wspólne warunki dla wszystkich hodowli były: jednakowa ilość płynu we wszystkich (250 cm.^{3}), jednakowe początkowe stężenie jonów wodorowych (Ph =6,8), znamionujące środowisko słabo kwaśne, dość powszechnie występujące w przyrodzie, jednakowa ilość pierwotna wiciowców, wszędzie 15 osobników w 1 mm^3. Pytania, na które Serja I miała odpowiedzieć, były: 1) Jaki jest przebieg rozwoju hodowli *Prowazekia* w temperaturze pokojowej, zmiennej (15° — 18° C). Do tego miała służyć hodowla, trzymana na stole w pracowni, *d*. 2) Jaki jest przebieg rozwoju hodowli *P. e.* w temperaturze cieplarki o 20° — 21° C. — do tego celu miała służyć hodowla *a*, nie różniąca się co do innych warunków od hodowli *d*. 3) W jaki sposób na intensywność rozrodu wiciowców wpływa zmiana w ilości pożywienia. Podczas więc, gdy hodowle *d* i *a*, jako pożywkę zawierały 5%-wy buljon, hodowla *c*, trzymana, również jak *a*, w termostacie, zawierała buljon 10%-wy. 4) Wreszcie hodowla, trzymana w 8 naczyniach, *b*, miała dać możność zbadania zmian w stężeniu jonów wodorowych podczas rozwoju. Hodowla ta zawierała buljon 5%-wy i trzymana była w cieplarce.

Doświadczenie trwało 35 dni; codziennie ustalana była we wszystkich hodowlach ilość wiciowców, metodą podaną powyżej, a w hodowli *b* stężenie jonów wodorowych. Po 35 dniach ilość wiciowców była w hodowlach bardzo nieznaczna, nie podlegała jednak widocznym wahnieniom ani zmianom; kontrola została przerwana.

Wyniki, dotyczące obrachunku ilości osobników w kolejnych dniach obserwacji w każdej hodowli, przedstawiają: podane zestawienie I i krzywe na wykresie № 1. W zestawieniu I podane są ilości wiciowców, obrachowanych w kolejnych dniach obserwacji w 4 hodowlach i suma tych wiciowców za czas dni 35. Za dni 23 — 27, w których, z techni-

ZESTAWIENIE I.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji I-szej.

Dni doświadcz.	*a*	*b*	*c*	*d*
	Ilość jednostek	Ilość jednostek	Ilość jednostek	Ilość jednostek
pocz.	15	15	15	15
1	170	171	188	156
2	859	812	859	497
3	1,297	2,109	2,343	703
4	2,171	2,171	2,234	1,156
5	2,109	2,500	2,562	1,005
6	2,484	2,500	3,359	1,156
7	2,429	2,343	3,609	1,890
8	2,640	2 031	3,281	1,781
9	1,906	1,359	1,805	1,560
10	1.406	969	1,703	1,531
11	1,187	969	906	1,648
12	1,019	843	1,015	1,359
13	968	515	1,015	950
14	750	703	1 062	593
15	859	312	797	781
16	686	375	531	465
17	425	296	625	437
18	391	140	531	297
19	437	187	625	389
20	415	165	585	320
21	375	109	544	203
22	425	140	750	187
23				
24				
25	1,295	540	1,910	545
26				
27				
28	93	78	15	31
29	78	103	30	156
30	55	125	47	171
31	78	93	47	140
32	73	78	78	31
33	33	47	93	47
34	47	87	78	15
35	62	125	93	15
Suma	27,242	22,112	33,525	20,230

cznych względów nie mogłem robić obrachowań, podane są liczby przeciętne z dnia 22-go i 28-go. Suma wiciowców w każdej z hodowli wynosi:

w	*a*	—	27.242
„	*b*	—	22.112
„	*c*	—	33.525
„	*d*	—	20.230

Na wykresie № 1 w każdej krzywej na rzędnych zaznaczone są kolejne dni obserwacji, na odciętych ilość osobników w 1 mm³. Pole, zajęte przez krzywą, wskazuje na sumę osobników, które obrachowane były przez dni 35. Suma ta nie będzie sumą wiciowców, które za czas doświadczenia powstały w hodowli, gdyż nie możemy ustalić, jak często następował podział, czy nie był raz wolniejszy, to znów szybszy i czy więc w rachunku ten sam osobnik nie występował kilka razy albo czy pewnej ilości nie pominięto. Sumę tę możnaby nazwać sumą wiciowcowych jednostek dziennych, rozumiejąc, że w każdym dniu obrachowywaliśmy właściwie ilość schematycznych jakby jednostek, trwających 1 dobę (Pr. zestawienie I).

Krzywe na wykresie I-ym pozwalają dać pewną charakterystykę rozwoju hodowli *Prowazekia* w warunkach, z jakiemi mieliśmy tu do czynienia. Zwraca uwagę, że wszystkie cztery krzywe, co do charakteru swego, mają wybitne wspólne cechy: wszędzie widzimy, że hodowla rozwijała się w ciągu, pierwszych 3 — 4 dni dość intensywnie i jednostajnie, najsłabiej w *d*. W 3 — 4 dniu następuje chwilowe osłabienie (we wszystkich hodowlach), a potem znów wzmożenie do dnia 7-go, 8-go. Od dnia 7 — 8 następuje powolny i dość równomierny spadek intensywności życia w hodowli: osobników staje się coraz mniej, a od dnia 28-go wszystkie hodowle są w stanie, który można nazwać wegetacją: ilość jednostek waha się stale od 15 do 171 najwyżej.

Bliższa analiza przebiegu krzywych wykazuje, że w hodowli *d* intensywność początkowa rozrodu, w ciągu dni 1—4, była mniejsza, niż w grupie *a*, *b* *c*, że również maksimum jednostek dziennych, (w *d*—maksimum 1890) było znacznie mniejsze, niż w *a* (maksimum 2640), w *b* (maksimum 2500) i w *c* (maksimum 3609) i że wreszcie ilość ogólna jednostek dziennych (w *d* — 20,230) była tu również mniejsza, niż w *b* (22,112), *a* (27,242) i *c* (33,525). Była to hodowla, trzymana w temperaturze niższej, pokojowej i zmiennej, w przeciwieństwie do hodowli trzech pozostałych.

Co do hodowli, trzymanych w termostacie, zwraca uwagę zbliżony bardzo przebieg rozwoju w hodowlach *a* i *b*. Obydwie one miały jako pożywkę buljon 5%-wy i pozostałe warunki identyczne, oprócz tego, że *b* była hodowana w 8 naczyniach i ulegała mieszaniu i przelewaniu. Przebieg tych krzywych wskazuje niewątpliwie, że mieszanie to nie miało istotnego wpływu na rozwój hodowli.

Krzywa *c* wybiega znacznie w maksimum poza pozostałe i również w ogólnej sumie jednostek dziennych; rozród był tu intensywniejszy i ilość wyprodukowanych osobników większa. Hodowla ta różniła się od

a i *b* większą zasobnością pokarmową: rozwijała się na pożywce 10%-ej.

Pomiary Ph w kolejnych momentach rozwoju hodowli dały wyniki następujące. Okresowi najintensywniejszego rozrodu (od dnia 1-go do 6-go) odpowiadało stężenie od 6.8 do 7.2, więc słabo kwaśne, następnie obojętne, aż do słabo zasadowego; spadkowi intensywności rozrodu — zwiększanie się wskaźnika Ph od 7.2 do 7.6, więc właściwości hodowli coraz bardziej zasadowe Przy Ph 7.6 zaczęła się już wegetacja hodowli, która trwała przy 8.6 — dalsze pomiary nie były robione.

Serja II miała odpowiedzieć na pytania, jakie znaczenie dla rozwoju hodowli ma początkowa wysokość Ph. Obejmowała ona 4 hodowle, różniące się jedynie początkowem stężeniem jonów wodorowych. Hodowla *m*, o stężeniu 5.6, była najbardziej kwaśna, *n*, o stężeniu 6 4, mniej kwaśna (kwaśniejsza od hodowli *a* — *d* z Serji I-ej — 6.8), *b* prawie obojętna 6.9 (prawie jednakowo kwaśna z hodowlą *d*) i *p* zasadowa, o stężeniu jonów wodorowych 7.7. Pozostałe warunki były wszędzie jednakowe: temp. pokojowa 15—18°C, ilość początkowa 15 osobników w 1 mm³, pokarm 5%-wy buljon.

Zestawienie II podaje kolejną i ogólną ilość jednostek dziennych w hodowlach. Wykres II-gi przedstawia stosunki rozwojowe w hodowlach tej serji i zestawiony jest w sposób analogiczny, jak wykres I-szy. Doświadczenie trwało 32 dni, przyczem w ciągu dni 29 — 31 była przerwa. Od dnia 19-go stan hodowli był już w wegetacji, t. zn. ilość wiciowców pozostawała wciąż nieznaczna i jednakowa. W takim stanie wegetacji i tu obserwacje zostały przerwane.

Przebieg krzywej *b* jest naogół zbliżony do przebiegu krzywych z wykresu I-go, a w szczególności zbliża się do krzywej *d*; podobne jest nachylenie początkowe i ilość jednostek dziennych, wytworzonych w hodowli za takiż przeciąg czasu (w *h* — 21,261 w ciągu 33 dni, w *d* — 20,200) Warunki hodowli *h* są też niemal identyczne z warunkami hodowli *d*, gdyż tylko różni je nieznacznie początkowa kwasowość (w *b* Ph = 6.9, w *d* Ph = 6.8) Od *a* różni je jeszcze temperatura (w *b* pokojowa 15—18°C, w *a* cieplarki 20—21°C).

Hodowle *m* i *n* na wykresie mają krzywe o przebiegu odmiennym od poznanych dotychczas, a przytem do siebie zbliżonym. Są to hodowle o stężeniu jonów wodorowych znacznie mniejszem, niż poprzednie, więc o kwasowości początkowej środowiska znacznie większej (w *m* — stęż. jonów wodorow. 5.6, w *n* — 6.4) Szczególnie odróżnia się od poznanych dotychczas krzywych, krzywa *m* (środowisko najwięcej kwaśne), podczas gdy krzywa *n* (środkowisko mniej kwaśne, niż *m*, a więcej kwaśne, niż *b*) stanowi jakby przejście między *m* i *b*. Przejściowe te właściwości krzywej *n* widzimy w nachyleniu jej początkowem i w jej wysokości. Cechy charakterystyczne krzywej *m* (a częściowo i *n*) byłyby (w porównaniu z *d* i *b*): znaczniejsze pionowe podniesienie się jej początkowe, wahanie się przez czas dłuższy na tej samej wysokości, mniejszej niż w maksimum krzywych *d* i *b*, brak jednego wierzchołka, dłuższy okres spadku. Hodowla ta rozwijała się więc w pierwszych chwilach intensywnej, niż *d* i *b*, ilość wytwo-

rzonych osobników była większa, nie dosięgła jednak intensywności maksymalnej *d* i *b*, a przez czas dłuższy (od dnia 3-go do 9-go) trwała na osiągniętym przez siebie poziomie. Nasuwa się tu odrazu myśl, że większa kwasowość początkowa spowodowała ów intensywniejszy rozród; ta początkowa intensywność odbiła się jednak na intensywności późniejszej. Krzywa *n*, jak wspomnieliśmy, zajmuje miejsce pośrednie między *b* i *m*, pod każdym względem: wznosi się początkowo mniej stromo, niż *m* i więcej niż *b*, sięga wyżej niż *m* i niżej niż *b*. Pomimo różnic w rozwoju hodowli *b*, *m* i *n* ogólna suma jednostek dziennych, wytworzonych w tych hodowlach, była niemal taka sama (*b* — przez 33 dni trwania hodowli — 21,261, *m* — 21,110, *n* — 19,559).

Śród krzywych, dotyczących rozwoju hodowli *Prowazekia*, jakie mieliśmy w dotychczasowych doświadczeniach, wyróżnić można 2 typy, zasadniczo odmienne, odpowiadające odmiennym kolejom rozwojowym hodowli. Jedne z nich (będziemy je nazywali krzywemi typu II—*a*, *b*, *c*, *d*, *b* częściowo *n*) są wyraźnie jednowierzchołkowe, z powoli, mniej więcej równomiernie, wznoszącemi się obu bokami, w pierwszej części więcej stromemi, niż w drugiej. Inny typ (typ III) stanowi krzywa *m*, która wznosi się początkowo ostrzej, niż krzywe typu II-go, potem staje się ząbkowaną na jednej wysokości, niższej niż maksimum w typie II, przez czas dłuższy i wreszcie, nie tworząc pojedyńczego wierzchołka, spada powoli.

Na wykresie II-im znajduje się jeszcze krzywa *p*. Reprezentuje ona hodowlę, różniącą się pod jednym względem od innych z tej serji i również od hodowli z serji I-szej: swą zasadowością. Początkowe stężenie jonów wodorowych w hodowli *p* jest $Pb = 7.7$.

m	—	5,6
n	—	6,4
a—*d*	—	6,8
b	—	6,9
p	—	7,7

Przebieg krzywej *p* (nazwiemy ją typem I) pod jednym względem zbliżony jest do krzywych typu II-go: swą jednowierzchołkowością; różni się od krzywych obu typów omówionych: powolnem wznoszeniem się początkowem, mniejszą wysokością i prędszym spadkiem. Pole, zajęte przez tę krzywą, jest zaledwie częścią pola, zajętego przez wszystkie inne krzywe na tym wykresie (i na wykresie I-szym); ilość też jednostek, wytworzonych w hodowli *p*, jest znacznie mniejsza, mianowicie 11,205 (pr. zestawienie II); w stosunku do hodowli *b* jest mniejsza niemal 2 razy. Niewątpliwie możemy już na zasadzie tego doświadczenia wyciągnąć wniosek, że wysoka zasadowość pierwotna hodowli (7,7) stać musi w związku ze słabym jej rozwojem.

Serja III i IV-ta. Serje te stanowiły jedno doświadczenie, złożone z 7 hodowli. Zadaniem doświadczenia było bliższe zbadanie zagadnienia, któremu poświęcona już była serja poprzednia, znaczenia początkowego stężenia jonów H·.

Wspólne warunki w hodowlach tych były następujące: 250 cm³ płynu w każdej, buljon 5%-wy, ilość pierwotna 7,5 osobników o jednym mm³,

ZESTAWIENIE II.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji II-ej.

Dnie doświadcz.	*m*	*n*	*b*	*p*
pocz.	15	15	15	15
1	312	174	160	140
2	1,150	781	281	257
3	1,500	937	687	437
4	1,140	1,140	835	437
5	1,531	1,468	984	500
6	1.250	1,171	1,500	734
7	1,640	1,250	2,000	859
8	1,468	1.578	2,203	793
9	1,562	2,078	2.390	1,312
10	1,392	1,628	2,032	990
11	1,156	1,031	2,054	625
12	656	718	859	281
13	750	601	625	390
14	531	640	468	359
15	593	297	718	359
16	343	125	421	265
17	343	175	250	200
18	371	218	225	140
19		312	218	218
20	175	312	225	200
21	218	218	218	140
22	140	175	320	218
23	155	175	140	265
24	175	218	150	218
25	203	235	320	265
26	170	250	359	180
27	110	311	279	110
28	484	375	421	47
29				
30	1,145	750	771	141
31				
32	281	125	93	47
33	110	78	78	63
Suma	21,110	19,559	21,261	11,205

cieplarka o 20—21°C. Różnice polegały na różnem początkowem stężeniu jonów wodorowych. W porównaniu z hodowlami z seryj poprzednich różnice dotyczą: ilości początkowej wiciowców i temperatury doświadczenia. Jak się okazało z rozwoju hodowli ilość początkowa, przynajmniej w zakresie 7,5—15 osobników w 1 mm³, wpływu niema; na wykresie, ani w obrachunkach wpływu tego wykazać nie można. Temperatura na intensywność rozrodu wiciowców ma wpływ znaczny; już w Serji I-szej widzieliśmy, że krzywe *a* i *b* szły znacznie wyżej, niż krzywa *d*, podczas gdy jedyną istotną między niemi różnicą było, że pierwsze dwie odpowiadały hodowlom, trzymanym w termostacie w 20—21°C, trzecia w pokoju w t. 15—18°C. I tu więc już z góry z rolą tego czynnika, porównując wyniki serji tej z serjami poprzedniemi, liczyć się musimy. Siedem hodowli, użytych w tem doświadczeniu, różniło się w następujący sposób:

Nr. 1	stężenie jonów wodorowych	mniej niż	4,8	—hodowla kwaśna
„ 2	„ „	„ równe	4,8	„ „
„ 3	„ „	„ „	6,2	„ „
„ 4	„ „	„ „	6,6	„ „
„ 5	„ „	„ „	7,0	„ obojętna
„ 6	„ „	„ „	7,3	„ zasadowa
„ 7	„ „	„ „	7,8	„ „

W opisie i na wykresach odzielimy serję III-cią, o środowiskach kwaśnych (Nr. 1—4) i serję IV-tą, o środowiskach zasadowych (Nr. 5 — 7).

Na wykresie III-im znajdujemy 2 krzywe, których charakter znamy już z wykresu II-go; przypominają one linie *m* i *n*, a w szczególności pierwszą z nich—są to tutaj krzywe Nr. *3* i *4*. Należą one również do typu krzywych, który oznaczyliśmy powyżej, jako typ III. Początkowe stężenie jonów wodorowych w tych hodowlach jest też bardzo zbliżone do stężenia początkowego w *m* i *n*; własności środowiska były wszędzie kwaśne:

Nr.	*4*	stężenie jonów wodorowych	6,6
„	*n*	„ „ „	6,4
„	*3*	„ „ „	6,2
„	*m*	„ „ „	5,6

Między właściwościami krzywych Nr. *3*, *4* a *m*, *n* są też różnice; nie uzewnętrzniają się one tyle w kształcie ogólnym krzywej, ile w jej wysokości (znaczniejszej w hodowlach Nr. *3* i *4*), a w konsekwencji i w rozmiarach pola, zakreślonego przez krzywe: ilość jednostek, wytworzonych w hodowlach Nr. *3*, *4* jest większa, niż w *m* i *n*. Być może, że przyczyną tego jest wyższa temperatura, w jakiej te hodowle były hodowane. Gdy porównamy ilości jednostek za czas obserwacyj 19-dniowych we wszystkich tych hodowlach, znajdujemy:

w ciągu 19 dni wytworzyło się jednostek dziennych w	*m*	— 17,365
„ „ „	*n*	— 16,337
„ „ „	*3*	— 18,843
„ „ „	*4*	— 23,093

Pr. też zestawienie III-cie.

ZESTAWIENIE III.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji III-ej.

Dnie doświadcz.	*Nr. 2*	*Nr. 3*	*Nr. 4*
początek	7	7	7
1	31	39	77
2	187	781	1,297
3	625	1,359	1,800
4	891	1,734	2,000
5	531	1,406	1,375
6	547	1,520	1,765
7	672	1,623	**2,015**
8	968	10,93	1,468
9	2,125	1,375	1,562
10	1,953	1,520	1,218
11	2,093	1,156	1,843
12	2,109	1,218	1,562
13	2,343	1,312	1,623
14	1,968	1,171	1,281
15	1,710	1,578	1,062
16	1,171	921	718
17	953	1,450	593
18	671	903	390
19	593	484	437
20	547	450	312
21	375	203	328
22	437	219	281
23	500	178	312
24	656	125	468
25	900	200	480
26	1,296	171	390
27	1,015	161	484
28	625	190	234
29	156	140	234
30	109	62	156
31	31	46	140
32	15	31	100
33	15	31	93
34	8	15	62
35	8	15	31
36	8	8	31
37	16	8	31
38	8	15	15
39	4	8	4
40	0	15	0
41	4	8	4
42	4	4	0
43	0	4	4
44	0	4	4
Suma	28,885	24,502	27,291

Na wykresie, omawianym obecnie, mamy jeszcze krzywą o charakterze, dotychczas nieznanym, oznaczoną liczbą 2. Krzywa Nr. 2 rozpoczyna się słabem stosunkowo wzniesieniem początkowem, za którem idzie depresja i znowu wzniesienie znaczne, trwające przez czas dłuższy; następuje spadek; wzniesienie ponowne pomijam narazie. Krzywa ta ilustruje rozwój hodowli o początkowej kwasowości bardzo znacznej i daleko znaczniejszej, niż w hodowlach dotąd omówionych:

hodowla Nr. 2 — stęż. jonów wodor. 4.8.

Rozwój hodowli, ilustrowany przez krzywą, można zrozumieć tylko w ten sposób, że początkowo, pod wpływem zbyt kwaśnego środowiska, był on słaby; dopiero po 8—9 dniach, gdy kwasowość, wskutek rozmnożenia się bakteryj i wiciowców, zmalała, nastąpił rozwój intensywny. Ilość jednostek dziennych, wytworzonych w tej hodowli w ciągu 36 dni obserwacji, jest nieco większa, niż w hodowlach, hodowanych równocześnie, Nr. 3 i Nr. 4. Różnica ta, wobec koniecznej nieścisłości obrachunku, nie miałaby istotnego znaczenia; zwrócić trzeba jednak uwagę, że wchodzi tu w grę jeszcze garb, wytworzony przez krzywą w drugiej jej połowie. Wytłomaczenie powstania tego garbu znajdujemy w dalszych doświadczeniach; wskażą nam one, że wywołują go specjalne warunki i że, przy porównaniu z innemi hodowlami tego cyklu, ilość osobników, wytworzona w ciągu dni 23 — 28 ponad przeciętną z tych dwóch dni, winna być od sumy ogólnej odliczona.

Krzywą Nr. 2 zaliczymy do nowego typu, który oznaczymy jako typ. IV; przedstawia ona rozwój hodowli o właściwościach odmiennych, niż dotąd omawiane, o środowisku wysoce kwaśnem (Ph. = 4.8 wobec 5.6 — 6.6, w typie III-im).

Na wykresie III-m znajduje się jeszcze zapoczątkowana krzywa Nr. 1; odpowiada ona hodowli Nr. 1, o Ph początkowem mniejszem niż 4.8. W ciągu kilku dni ilość osobników była w niej równa początkowej 7.5 do 15; dnia 7-go hodowla wymarła (pr. bliżej granice możliwej kwasowości początkowej, str. 313).

Wykres IV ilustruje stosunki w drugiej grupie z tego doświadczenia, zawierającej hodowle, oznaczone numerami 5, 6 i 7. Są to hodowle o środowiskach zasadowych.

Krzywe Nr. 5 i 6 charakterem swym przypominają krzywe typu II-go, więc *a* — *d* i *b*. Krzywa 7, nieco niższa, zbliża się pod tym względem do krzywej *p*. Początkowe stężenie jonów wodorowych w tych hodowlach:

Nr. *5* — stęż. jonów wodorowych 7,0
„ *6* — „ „ „ 7,3
„ *7* — „ „ „ 7,6

Krzywe ilustrują mniej więcej w jednozgodny sposób stosunki rozwojowe hodowli słabo zasadowych, takich, jakiemi poprzednio już były *b* i *a*—*d*. Z tych hodowli Nr. 7, jako najwięcej zasadowa, w rozwoju swym zbliża się najwięcej do *p*., jednakże, pod względem ilości jednostek

ZESTAWIENIE IV.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji IV-ej.

Dnie doświadcz.	*Nr. 5*	*Nr. 6*	*Nr. 7*
początek	7	7	7
1	55	47	39
2	828	671	500
3	1,371	1,200	859
4	1,562	1,945	1,093
5	2,687	2,293	797
6	2,609	1,812	1,015
7	2,015	1,921	1,421
8	1,171	1,422	1,593
9	2,265	1 609	1,171
10	1,093	1,156	937
11	1,500	1,781	1,281
12	1,390	1,406	1,390
13	1 062	1,015	1,109
14	750	1,172	1,040
15	578	734	812
16	250	531	765
17	140	281	625
18	62	281	586
19	71	375	546
20	78	237	500
21	62	125	586
22	156	171	500
23	78	125	703
24	203	156	409
25	300	200	432
26	351	234	456
27	250	140	409
28	156	109	300
29	125	24	156
30	156	77	93
31	265	109	78
32	351	98	82
33	343	62	109
34	156	54	78
35	109	31	78
36	78	31	62
37	64	64	31
38	31	31	62
39	8	16	31
40	8	31	46
41	8	16	31
42	4	8	8
43	0	8	
44	0	0	0
Suma	25,806	22,816	22,830

dziennych, które wytworzyły się w niej, w małym zaledwie stopniu różni się od hodowli Nr. *5* i *6* (pr. zestawienie IV).

Ilość jednostek, które wytworzyły się w tych hodowlach jest następująca:

hodowla Nr. *2* ilość jednost. dziennych w ciągu dni 44 — 28,885
„ „ *3* „ „ „ „ — 24,502
„ „ *4* „ „ „ „ — 27,291
„ „ *5* „ „ „ „ — 25,806
„ „ *6* „ „ „ „ — 22,816
„ „ *7* „ „ „ „ — 22,830

Ilość jednostek dziennych w hodowlach Serji III i IV jest nieco większa, niż była w serji II; łączy się to częściowo z tem, że kontrola była prowadzona dłużej. W hodowlach Serji III i IV ilość jednostek jest niemal jednakowa, choć stwierdzamy, że w dwóch ostatnich hodowlach, o zasadowości znaczniejszej, jest ona najmniejsza. Z drugiej strony ilość jednostek w hodowli Nr. 2 jest zwiększona przez skok w dniach 22 — 29. Jeżeli odliczyć jednostki, obrachowane w ciągu tych dni ponad przeciętną z dni 22 i 29, ilość w hodowli Nr. 2 zmniejszy się o 2000 — 3000 (pr. wyjaśnienie bliższe str. 306).

Wyniki, otrzymane w Serjach III-ej i IV-ej, potwierdzone zostały jeszcze na kilku innych hodowlach, prowadzonych w analogicznych warunkach.

Z doświadczeń, przedstawionych dotychczas, można wyciągnąć pewne wnioski ogólne, dotyczące rozwoju hodowli *Prowazekia edax* w zależności od stężenia jonów H', więc od stopnia jej kwasowości bądź zasadowości. Stopień początkowego stężenia jonów H· wpływa, jak widzieliśmy, na: początkową intensywność rozrodu (więc na ilość wiciowców, wytwarzających się w hodowli w pierwszych dniach, wyrażającą się na wykresie w nachyleniu początkowej części krzywej), na maksymalną ilość jednostek dziennych (więc na wysokość krzywej, ew. wysokość jej wierzchołka) i na absolutną ilość jednostek, wytworzonych w ciągu trwania hodowli (na wielkość pola, zajętego przez krzywą).

Hodowle omówione można rozsegregować według krzywych, które ilustrują ich przebieg rozwojowy, w następujący sposób:

	Przy Ph:		
typ I krzywej:			
w temp. pokojowej.(15 — 18° C)			7.7
typ II:			
w temp. pokojowej	6.5,	6.8,	6 9
w temp. cieplarki (20° — 21° C.)	6.8,	7.0,	7.3
typ III:			
w temp. pokojowej	5.6,	6.4	
w temp. cieplarki	6.2,	6.6	
typ IV:			
w temp. cieplarki	4.8		

Wnioski byłyby następujące;

Stopień kwasowości bądź zasadowości początkowej hodowli *Prowazekia edax* wpływa w wysokiej mierze na jej rozwój. W doświadczeniach dotychczasowych stężenie jonów H· badane było jedynie w granicach od Ph = 4.8 do 7.8; w tych granicach wiciowce się rozwijały. Intensywność początkowa rozwoju hodowli jest największa (w tych samych innych warunkach) przy słabej kwasowości, 6.2 — 6.6. Hodowle, o początkowej kwasowości mniejszej, słabo zasadowe, posiadają początkowy rozwój słabszy, ale prowadzi on stopniowo do znaczniejszej intensywności, która jednak trwa krótko (krzywa spiczasta, jednowierzchołkowa). Hodowle, o kwasowości początkowej większej, (mniej niż 6.2), rozwijają się słabo przez długi czas; rozwój zaczyna się intensywniejszy, gdy kwasowość środowiska zmaleje. Hodowle, o znacznej zasadowości, rozwijają się słabiej, niż poprzednie i — w przeciwieństwie do wszystkich innych omówionych hodowli — wytwarzają mniejszą ilość osobników.

Serja V. Serja ta poświęcona była dalszemu zbadaniu znaczenia jonów H·. Składała się z 4 hodowli zwykłych, w butelkach stojących, po 500 cm.³ płynu w każdej; temp. pokojowa; ilość początkowa wiciowców 7½ w 1 mm.³; buljon 10%-owy; kwasowość pierwotna 6.5.

Hodowla C_1 pozostawiona była własnemu losowi, hodowle C_2, C_3 i C_4, założone w taki sam sposób jak poprzednia, po 4 dniach posłużyły do specjalnych doświadczeń. Przebieg rozwoju wszystkich tych hodowli ilustruje wykres V i zestawienie V.

Przebieg rozwoju hodowli C_1 (za ciąg dalszy jej możemy uważać hodowlę C_1a; pr. wyjaśnienie, str. 303), przedstawia na wykresie krzywa, oznaczona literami C_1 i C_1a. Krzywa ta, przedewszystkiem początkowe jej wzniesienie, wskazuje, że mamy do czynienia z krzywą typu II. Jest to hodowla o kwasowości pierwotnej 6.5, odpowiadająca więc temu typowi. Ilość jednostek, wytworzonych w hodowli C_1 ($+C_1a$) jest nieco większa, niż w innych analogicznych z serji III-ej: być może, że stoi to w związku z większą zawartością pokarmu (10%) albo większą ilością płynu w hodowli (500 cm.³).

Z hodowlami C_2, C_3 i C_4 zrobione były następujące doświadczenia. Jak wspomniane już było poprzednio, celem przygotowania hodowli o różnem pierwotnem stężeniu jonów wodorowych, do pożywki, doprowadzonej zapomocą dodawania ługu potasowego do zasadowości koło 7.6, dodawany był kroplami kwas solny; stopniując ilość kwasu solnego, można było otrzymać szereg pożywek o różnej skali zasadowości i kwasowości.

ZESTAWIENIE V.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji V.

Dnie	C_1		C_2		C_3		C_4	
początek	7		7		7		7	
1	15		15		15		15	
2	359		375		375		375	
3	859		718		718		785	
4	1,250		1,415		1,415		1,843	
5	1,047		1,279		1,279		1,608	
6	1,531		1,640		1,640		1,687	
7	1,313		1,500		1,968		1,797	
8	1,547		1,437		2,015		2,281	
9	1,234		1,421		1,796		1,781	
10	1,375		1,500		1,921		2,531	
11	1,562		1,750		1,921		1,945	
12	1,578		1,640		1,656		2,043	
13	1,400		1,590		1,450		1,875	
14	1,109		1,578		1,281		2,031	
15	1,150		1,093		1,140		2,179	
16	1,000		980		1,100		2,500	
17	890		738		1,171		2,671	
18	1,515		437		875		1,765	
19	1,000		609		671		1,703	
20	1,093		406		671		1,390	
21	797		593		575		1,312	
22	900		700		510		1,410	
23	730		780		530		1,500	
24	312		656		343		1,250	
25	296		546		395		—	
	a	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*
25	—	—	—	—	—	—	781	1,935
26	390	1,578	656	1,062	187	1,404	859	3,765
27	296	1,929	540	3,484	250	4,350	840	4,531
28	175	3,750	437	2,734	194	3,000	781	3,437
29	156	1,818	390	2,710	171	1,171	520	2,015
30	78	1,078	400	1,171	184	578	430	640
31	140	400	190	420	150	360	480	360
32	47	230	90	150	140	140	170	110
33	24	75	45	47	90	75	47	48
34	8	15	4	8	4	35	4	8
Suma	27,183	36,742	28,155	37,189	28,818	38,561	45,785	56,933

Celem sprowadzenia pożywki w ilości 500 cm.³ płynu od Ph=7.8 do Ph = 6.5, trzeba było dodać 10 kropli 10%-ego kwasu solnego. A że w rozwoju hodowli, o początkowej kwasowości 6.5, dochodziło w odwrotnym kierunku do zalkalizowania środowiska, mniej więcej do 7.8, stąd wynikało, że gdyby w rozwoju hodowli takiej dodać jej tyleż właśnie kropli 10%-go kwasu solnego, możnaby utrzymać kwasowość pierwotną na niezmiennym poziomie. Alkalizacja następowała równorzędnie z wytwarzaniem się wiciowców; w ciągu okresu czynnego rozwoju hodowli przeciętnie wytwarzało się do 30.000 jednostek dziennych wiciowców. Przeciętnie więc biorąc, w miarę wytwarzania się 3.000 jednostek dziennych wiciowców, alkalizacja zwiększała się w takich rozmiarach, że mogła ją zobojętnić 1 kropla 10%-go kw. solnego.

Wychodząc z tych obrachunków i aby zbadać, jak będzie przebiegał rozwój hodowli, gdy zachowana będzie stała kwasowość pierwotna, do hodowli C_3 były dodawane krople 10%-go kw. solnego co kilka dni, w ilości, odpowiadającej ilości wytworzonych jednostek dziennych wiciowców.

Pierwsza kropla została dodana na 4-ty dzień, gdy ilość jednostek, wytworzonych do tego czasu, wyniosła 2530. Drugi raz dodano 2 krople po 3 dniach, gdy ilość jednostek, wytworzonych od początku, wyniosła 9434; trzeci raz znowu 2 krople po 11 dniach. Do tego czasu więc razem dodano 5 kropli na 15,072 wytworzonych jednostek dziennych. Pionowe linje na wykresie V oznaczają dnie, w których był dodawany kwas solny. Jak widać z wykresu V, krzywa C_3, pomimo takiego zobojętniania tworzącej się zasadowości w środowisku, wskazuje na zanik intensywności hodowli: obniża się ona tak samo, jak wszystkie dotychczasowe krzywe. Po każdorazowem dodaniu kwasu, badana była reakcja środowiska przy pomocy czerwieni obojętnej. Ażeby usunąć przypuszczenie, że ewentualna zbytnia kwasowość może powodować osłabienie rozwoju, hodowla od dn. 11 zostawiona została przez 7 dni bez zmiany; spadek od dnia 11-go do 18-go jest widoczny. Dnia 18-go znowu dodano kw. solnego, w stosunku wszakże zmienionym, takim, aby jedna kropla wypadła na 4000 jednostek, licząc wszystkie od początku. Wobec tego, że w 18-ym dniu ilość wytworzonych jednostek dosięgła 23,745 (23,745 : 4000 = prawie 6) dodano do poprzednich 5 kropli jeszcze 1 kroplę kwasu. Spadek krzywej, zupełnie równomierny, trwał nadal. Wobec tego w dalszym ciągu nie wpływano już na zmianę stężenia jonów wodorowych zupełnie, krzywa jednak stopniowo opadała. Doświadczenie to niewątpliwie wskazało, że alkalizowanie się środowiska, w miarę normalnego rozwoju hodowli *Prowazekia*, nie jest jedyną przyczyną, która powoduje obniżenie się intensywności tego rozwoju, a wreszcie jego niemal zupełne zahamowanie.

Ażeby zbadać, w jakim stopniu wpływać może na rozwój hodowli zużycie pokarmu, zrobione zostało doświadczenie następujące. Jeżeli przypuścić, że zużycie pokarmu powoduje stopniowe osłabienie i wreszcie zanik hodowli, to trzebaby przyjąć, że wytworzenie mniej więcej

30,000 jednostek zużywa (przy 10%-ym buljonie, w hodowli o ilości 500 cm^3 płynu) 50 cm^3 buljonu; więc wytworzenie 3,000 jednostek stoi w związku z zużyciem 5 cm^3 buljonu. W doświadczeniu C_2 dodawano, w miarę wytwarzania się jednostek dziennych wiciowców w ilości 3,000, po 5 cm^3 buljonu Pionowe linje na wykresie oznaczają również dnie dodawania buljonu. Jak widzimy, krzywa C_2 przebiega niemal zupełnie tak samo, jak krzywa hodowli kontrolnej C_1. Zwiększenie w dwójnasób pożywienia nie wpływa tutaj na intensywność rozrodu hodowli (w granicach 10% i 20%-go buljonu). Wynika stąd więc ważny wniosek, że przyczyną, powodującą stopniowy zanik hodowli *Prowazekia* nie jest w tym wypadku zmniejszenie się ilości pożywienia. Ilość jednostek dziennych, wytworzonych w ciągu 34 dni trwania trzech hodowli: $C_1(+C_1a)$, $C_2(+C_3a)$ i $C_3(+C_3a)$ (i w tych dwóch hodowlach możemy również uważać C_2a za ciąg dalszy C_2, a C_3a za ciąg dalszy C_3) jest niemal jednakowa, pomimo iż pierwsza pozostawiona była swemu losowi i ilość pokarmu zużywała się w niej, a kwasowość pierwotna ustępowała zasadowości, zaś w drugiej ilość pokarmu pozostawała mniej więcej bez zmiany, a w trzeciej alkalizacja była zahamowana.

Ilość jednostek dziennych, wytworzonych po 34 dniach:

w hodowli $C_1 (+ C_1a)$ — 27,183
„ $C_2 (+ C_2a)$ — 28,155
„ $C_3 (+ C_3a)$ — 28,810

Czwarta hodowla z tej serji, C_4, łączyła w sobie doświadczenie C_2 i C_3: w miarę przybywania jednostek dziennych, dodawany był do hodowli co kilka dni buljon 5%-owy i kwas solny 10%-owy, początkowo w stosunku 1 cm^3 i 1 kropli na 3,000 jednostek, potem w takiej samej ilości na 4,000 jednostki dzienne. Charater krzywej C_4 w zasadzie nie różni się od charakteru krzywych C_1, C_2 i C_3, jest ona jednak więcej wzniesiona; ilość jednostek wytworzonych jest większa. Stanowi ona w hodowli $C_4(+C_4a)$ — 45,196. I tu wszakże intensywność rozrodu jest ograniczona i, pomimo utrzymania początkowej kwasowości środowiska i stałego dostarczania pokarmu, rozwój hodowli został zahamowany, intensywność stopniowo malała i wreszcie hodowla doszła do stanu, oznaczonego przez nas powyżej mianem wegetacji. Od czego zależne było, że jednak ilość jednostek, tu wytworzonych, jest większa od tej, którą widzieliśmy w trzech pozostałych hodowlach, trudno określić: być może, że przygodne warunki były korzystniejsze lub że istotnie zmiana ilości pożywienia albo kwasowości wywołała ten skutek. Doświadczenie to zasadniczo jednak wpłynąć na wyniki nasze nie może, gdyż i ono wskazuje, że poza pokarmem i stopniem stężenia jonów wodorowych jest jeszcze czynnik w hodowli, który warunkuje jej rozród i że usunięcie możliwości zmiany tamtych dwóch czynników nie może wpłynąć na stopniowy zanik żywotności hodowli.

Czynnikiem takim, jak wiemy skądinąd, może być: nagromadzenie się produktów przemiany materji płynnych i gazowych oraz brak dostatecznej ilości tlenu. Doświadczenie, jakiemu poddane zostały wszystkie cztery hodowle w dniach 24 i 25-ym ich trwania, wskazują na znaczenie niektórych z tych czynników.

W 24-ym dniu trwania hodowli C_4, odlano część płynu z butelki po uprzedniem dokładnem jego zmieszaniu, w ilości 65 cm^3, do drugiej takiej samej butelki. W starej hodowli pozostało obecnie 300 cm^3 płynu. Suma tych dwóch ilości nie odpowiada pierwotnej ilości płynu w hodowli C_4, podczas jej zakładania (500 cm^3); ubytek został spowodowany przez stopniową zatratę płynu podczas brania prób do obliczeń. Butelka z nową hodowlą, nazwaną C_4 b, położona została na płasko, podczas gdy dawna, obecnie C_4 a, pozostawiona została w pozycji stojącej. W dawnej hodowli mieliśmy obecnie 300 cm^3 płynu przy wysokości jego 5,45 cm, a powierzchni 55 cm^2; w nowej 65 cm^3 przy wysokości 0,32 cm^3, a powierzchni 200 cm^2. Stosunek głębokości płynu w obydwu hodowlach przedstawiał się jak 5,45 : 0,32, czyli prawie jak 17 : 1. W hodowli starej, C_4 a nie nastąpiła zasadnicza zmiana w rozwoju; krzywa C_4 a wznosi się nieznacznie, jednak wkrótce znów spada. W hodowli C_4 b nastąpił gwałtowny rozród, trwający kilka dni, osiągając maksimum w dniu 3-im; wskazuje na to krzywa C_4 b na wykresie. Ilość jednostek, wytworzonych w 1 mm^3, doszła do 4531, liczby, której nie mieliśmy w żadnym dotąd wypadku. Po 10 dniach i ta hodowla przeszła w stan wegetacji.

Z doświadczenia tego wyprowadzić trzeba wniosek, że w pierwotnej hodowli C_4, pomimo jej zanikania, nie brakowało pokarmu dla wiciowców, ani stężenie jonów wodorowych nie było nieodpowiednie dla rozrodu pierwotniaków; zanikanie hodowli nie było więc zależne ani od braku pokarmu, ani od zbytniej zasadowości środowiska. Inny czynnik musiał tu odgrywać rolę, a był nim stosunek wielkości wolnej powierzchni płynu do jego objętości, więc łatwość dostępu tlenu do hodowli i możność usuwania z niej gazowych produktów przemiany materji. Po pewnym czasie nastąpił znów zanik hodowli; można przypuszczać, że z kolei czynnikiem, który tu wchodzi w grę, staje się nagromadzenie płynnych produktów rozpadu. W dniu następnym (25-ym) zrobione zostały analogiczne doświadczenia z hodowlami C_3, C_2 i C_1. Stosunek objętości płynu w tych nowych hodowlach C_3b, C_2b i C_1b do starych C_3a, C_2a, C_1a był taki sam, jak w hodowlach C_4b i C_4a. Przebieg rozwoju tych hodowli ilustrują odpowiednie krzywe na wykresie IV i zestawienie V. Dają one wynik zupełnie zgodny z tem, co otrzymaliśmy w hodowli C_4. Wobec tego, że w hodowlach C_1a — C_4a nie nastąpił wzmożony przyrost, odlanie 65 cm^3 nie miało widocznego wpływu. Mogliśmy też, nie popełniając wielkiego błędu, hodowle te uważać za ciąg dalszy hodowli C_1—C_4.

Czynnikiem decydującym w rozwoju hodowli *Prowazekia edax* zdaje się być nie ilość pokarmu (przy istnieniu pewnego minimum), ani stężenie jonów wodorowych (o ile nie przekracza ono granic zasadniczych możliwości rozwoju), ani wreszcie stosunek powierzchni hodowli do objętości. Przy wystarczającej ilości pokarmu, przy odpowiednim do rozwoju stężeniu jonów $H^{\cdot}$, przy najkorzystniejszym stosunku powierzchni hodowli do jej objętości, następuje zanik hodowli — czynnikiem decydującym w tych warunkach zdaje się być nagromadzenie produktów przemiany materji.

Celem bliższego poznania znaczenia stosunku powierzchni hodowli do jej objętości wykonane zostały doświadczenia serji VI-ej.

Serja VI. obejmuje 3 hodowle, oznaczone literami E_1—E_3. Warunki wspólne: temp. pokojowa, ilość początkowa wiciowców 15 w 1mm³, buljon 5%-owy, Ph = 6,9. Hodowle trzymane były w butelkach stojących. Hodowla E_3 odpowiadała mniej więcej hodowli *b* z Serji II-ej. Różnice między E_1 — E_3 dotyczyły ilości płynu w hodowli i stosunku powierzchni do objętości. E_1 zawierała 750 cm³ = 55 cm² × 13,6 cm; E_2 — 500 cm³ = 55 cm² × 9,09 cm, E_3 — 250 cm³ = 55 cm² × 4,5 cm.

Zestawienie VI i wykres VI ilustrują przebieg rozwoju omawianych hodowli. Wszystkie one obserwowane były w normalnym swym stanie aż do dnia 16-go i 18-go. W dniach tych poddane zostały takim samym doświadczeniom, jakie wykonaliśmy w Serji V-ej. Rozwój hodowli już w ciągu pierwszych 16 dni wskazuje najwidoczniej na wpływ stosunku powierzchni do objętości. Intensywność początkowa największa jest w hodowli E_3, stosunkowo najpłytszej mniejsza w E_2 i najmniejsza w E_1. Intensywność maksymalna jest większa w hodowlach głębszych, (E_2, E_1) jednak następuje później, niż w płytszych (E_3); wiemy, że w hodowlach bardziej płytkich, niż E_3 (np. C_1b—C_4b) intensywność maksymalna staje się znowu większa i występuje wcześniej.

Doświadczenia, wykonane w hodowlami E_1—E_3 w dniach 16-ym i 18-ym, pozwalają na potwierdzenie wniosków, wysnutych już w serji V-ej. Od każdej z hodowli (od E_1 i E_3 dnia 16-go, a od E_2 dnia 18-go) odlano zostało po 25 cm³ płynu i przelane do płaskiej butelki. W odszczepionych hodowlach E_1b, E_2b i E_3b widzimy intensywny rozród. Ilość absolutna wynosi:

w $E_1 + E_1b$	—	33,352	za czas dni	31
„ $E_2 + E_2b$	—	31,928	„ „	31
„ $E_3 + E_3b$	—	27,712	„ „	39

przyczem hodowle pierwsza i druga w dniu 32-im wymarły, zaś hodowla trzecia w momencie, gdy przerwane zostały obserwacje, była jeszcze w stanie wegetacji.

Na wykresie znajdują się ponadto krzywe, oznaczone literami E_1a—E_3a; odpowiadają one rozwojowi dawnych hodowli E_1—E_3 po odlaniu

ZESTAWIENIE VI.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji VI-ej.

Dnie	E_1		E_2		E_3	
początek	15		15		15	
1	15		15		30	
2	156		109		500	
3	210		418		1,171	
4	421		1,023		1,381	
5	781		921		1,815	
6	1,171		1,425		1,415	
7	1,484		1,718		843	
8	1,656		1,656		1,218	
9	1,875		1,937		1,562	
10	1,900		2,100		1,012	
11	2,015		2,195		1,200	
12	2,062		2,343		625	
13	2,031		2,656		390	
14	1,500		1,750		375	
15	1,050		1,300		424	
16	890		265		453	
17	—		234		—	
18	—		234		—	
	a	*b*	*a*	*b*	*a*	*b*
17	425	1,380	—	—	378	1,100
18	187	2,812	—	—	187	2,273
19	281	3,125	437	1,875	843	2,906
20	265	3,687	375	2,140	1,250	2,156
21	265	1,250	300	1,703	512	2,343
22	215	525	281	1,475	175	1,275
23	175	425	265	957	215	250
24	93	281	265	300	145	215
25	93	265	187	215	93	156
26	78	175	215	251	93	93
27	93	109	187	215	109	62
28	156	32	124	187	187	46
29	78	32	175	140	93	46
30	78	16	140	93	109	62
31	63	16	187	63	215	46
32	63	0	187	0	320	16
33	32	—	171	—	336	46
34	63	—	234	—	93	32
35		—		—		
36	256	—	624	—	202	128
37		—		—		
38		—		—		
39	63	—	78	—	8	32
Suma	22,254	33,352	26,746	31,928	20,072	27,712

od nich po 25 cm^3 płynu. Jak widać z przebiegu tych krzywych, na rozwój hodowli E_1 i E_2 odlanie po 25 cm^3, wobec znacznej początkowej ilości płynu, żadnego niemal wpływu nie wywarło: widzimy zaledwie nieznaczne wzniesienie się krzywych w dniach 19—22-im. Na rozwój hodowli E_3 odlanie to miało jednak wpływ, gdyż w ciągu dni 18—22 wytworzyła krzywa E_3a dość znaczny garb: wobec mniejszej ilości płynu w hodowli E_3 (początkowo 250 cm^3) odlanie 25 cm^3 wytworzyło znaczną różnicę w stosunku powierzchni do objętości i spowodowało intensywniejszy rozród. Garb, wytworzony w krzywej E_3a, przypomina wzniesienia na krzywych, dotyczących niektórych hodowli z poprzednich seryj, np. z serji III-ej, hodowli Nr. 2; wzniesienia te mogły być wytworzone i tam przez utratę znacznej ilości płynu, użytego do mierzeń Ph.

Serja VI potwierdza wnioski, jakie wysnuliśmy już poprzednio co do znaczenia stosunku powierzchni hodowli do jej objętości dla początkowej intensywności rozwoju, która staje się tem większa, im płytsza jest hodowla; ponadto na hodowlach E_1 — E_3 widzimy, że intensywność maksymalna staje się większa w hodowlach głębszych, występuje jednak później, niż w płytszych.

Serja VII pozwala poznać dokładniej znaczenie pokarmu dla rozwoju hodowli *Prowazekia edax*. Obejmuje ona 16 hodowli, oznaczonych liczbami 1—16. Wspólne ich właściwości: 25 cm^3 płynu, rozlanego płasko w butelce, o powierzchni 200 cm^2, wysokości płynu 0,12 cm; temperatura cieplarki 20—21°C; ilość początkowa wiciowców 15 w 1 mm^3. Różnice polegają na różnej procentowości buljonu. Hodowle te zawierają:

hodowla Nr.	*1*	—	300%-owy buljon
„	*2*	—	270 „ „
„	*3*	—	240 „ „
„	*4*	—	180 „ „
„	*5*	—	150 „ „
„	*6*	—	75 „ „
„	*7*	—	60 „ „
„	*8*	—	50 „ „
„	*9*	—	40 „ „
„	*10*	—	30 „ „
„	*11*	—	20 „ „
„	*12*	—	10 „ „
„	*13*	—	5 „ „
„	*14*	—	$2^1/_2$ „ „
„	*15*	—	1 „ „
„	*16*	—	$^1/_2$ „ „

Buljon 300% stanowi zgęszczoną pożywkę, przygotowywaną w Zakładzie Epidemjologicznym, przed zwykłem rozcieńczeniem jej wodą.

Wykres VII i Zestawienia VII A i B wskazują na przebieg rozwoju hodowli. Pozwalają one na stwierdzenie związku między ilością pokarmu:

1) a maksymalną ilością jednostek dziennych w hodowli, 2) długością jej trwania, 3) absolutną ilością wytworzonych wiciowców i wreszcie 4) intensywnością początkową ich rozwoju. (Por. Zestawienie VII a).

Najwyższą maksymalną ilość jednostek dziennych znajdujemy w hodowlach Nr. 9 i 8, t. j. zawierających 40% — 50%-owy buljon; począwszy od tego stężenia buljonu, zarówno w hodowlach o większem jego stężeniu, jak i mniejszem; ilość maksymalna jednostek dziennych stopniowo maleje. Ilość ta, w hodowlach z 40%-ym buljonem wynosi 26,250 jednostek w 1 mm³ w 3-im dniu rozwoju (pr. Zestawienie VII b), w hodowlach z 50%-ym buljonem wynosi 24,875 jednostek i również w 3-im dniu. Maksymalna ilość w hodowli z ½%-ym buljonem wynosi 1437 jednostek w 5-ym dniu i z 300%-ym buljonem 2582 w 3-im dniu.

Znaczna ilość maksymalna jednostek w hodowlach Serji VII-ej, w porównaniu z małą ilością w Serjach poprzednich, odpowiada wynikom, dotyczącym znaczenia stosunku powierzchni hodowli do jej objętości, uzyskanym z doświadczeń Serji VI-ej i V-ej.

Sprawa czasu trwania hodowli musi być traktowana oddzielnie w stosunku do hodowli Nr. 1 -10 i Nr. 11—16. Hodowle pierwszej grupy wymarły:

Nr.	*10*	—	w 11	dni
„	*9*	—	„ 10	„
„	*8*	—	„ 8	„
„	*7, 6, 5, 4, 3, 2, 1*	„	7	„

W drugiej grupie, w ciągu 20 dni obserwacyj nie wymarła żadna z hodowli, jednakże od dnia 8—11-go wszystkie przeszły w stan wegetacji.

Inne też były właściwości morfologiczne i fizjologiczne osobników obu grup w drugiej połowie ich okresu rozwojowego. W pierwszej grupie wiciowce dorastały do znacznych rozmiarów, 25 — 30μ na długość i ginęły wskutek stopniowej wakuolizacji; w drugiej — rozmiary osobników stawały się z każdym dniem mniejsze, dochodziły do 5 — 3μ na długość, wiciowce jednak w hodowli nie ginęły, choć były bardzo nieliczne. W hodowlach pierwszej grupy wiciowce wymierały, pomimo masowego rozwoju bakteryj. Przyczyną mogło być działanie produktów przemiany materji, wytwarzanych przez bakterje, a ewentualnie zatrucie toksynami z buljonu. Za przeważającem znaczeniem produktów przemiany materji zdaje się przemawiać nadzwyczaj obfity rozwój bakteryj i znaczna intensywność początkowa, nawet w hodowlach o wysokiej procentowości buljonu. Wniosek ten popierają też wyniki, uzyskane z serji V, wykazujące, że zahamowanie rozwoju hodowli, przy nadmiarze pokarmu, zależeć może od zmian, jakie w niej następują w miarę rozmnażania się bakteryj i wiciowców. Przyczyną zmniejszania się osobników i słabego ich rozrodu w drugiej grupie był niewątpliwie brak pokarmu.

Z grupy I-szej wyróżniające właściwości posiadały hodowle Nr. 9 i 10. W tych dwóch hodowlach wiciowce nie dorastały do tak znacznych rozmiarów, jak w hodowlach Nr. 1 — 8, wymierały jednak również przez wakualizację; hodowle te trwały też najdłużej śród grupy I-szej; bakteryj była ilość nieznaczna. Można stąd wyprowadzić wniosek, że w hodowlach

ZESTAWIENIE VIIa.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji VIIa.

Dnie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pocz.	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
1	219	203	251	203	267	325	203	460	375	396
2	359	453	593	812	1,250	3,750	4,500	8,625	4,750	5.625
3	2,582	4,687	6,062	8,750	9,750	13,875	18,750	24,875	26,250	10,125
4	1,312	3,000	3,625	8,125	6,500	10,937	7,125	11,528	16,367	15,000
5	937	1,874	3,500	3,875	1,406	5,625	3,625	9,500	10,742	13.476
6	8	8	160	1,600	1,390	500	16	937	1,875	11.250
7	0	0	0	0	0	0	0	16	312	1,125
8	—	—	—	—	—	—	—	0	16	250
9	—	—	—	—	—	—	—	—	16	62
10	—	—	—	—	—	—	—	—	0	16
11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Suma	5,432	10,240	14,206	23,380	20,578	35,027	34,234	57,956	60,718	57,340

	11	12	13	14	15	16
pocz.	15	15	15	15	15	15
1	312	297	265	312	265	32
2	7,625	6,875	3,000	5,250	2,187	46
3	11,250	12,226	5,500	5,500	1,500	468
4	17,125	12,250	8,000	5,250	1,250	1,250
5	10,750	12,734	6,531	2 000	781	1,437
6	8,500	6,250	4,125	2,187	750	6`5
7	5,625	5,500	3,750	1 562	562	641
8	234	1,062	2,187	468	500	312
9	145	312	1,872	936	219	160
10	687	160	1,600	875	160	187
11	192	80	176	516	160	219
12	63	46	96	390	160	340
13	46	96	219	250	235	160
14	16	192	436	460	320	125
15	78	175	328	266	250	160
15	109	125	266	328	160	96
17	218	125	234	312	96	78
Suma	62,990	58,520	38,594	26,877	9,570	6,351

ZESTAWIENIE VIIb.

Maksymalna ilość jednostek dziennych w hodowlach Serji VII

Hodowla Nr.	Dnie	Ilość maks.
1	3	2,582
2	3	4,687
3	3	6,052
4	3	8,750
5	3	9,750
6	3	13,875
7	3	18,750
8	3	24,875
9	3	26,250
10	4	15,000
11	4	17,125
12	5	12,734
13	4	8,000
14	3	5,500
15	2	2,187
16	5	1,437

o buljonie 30 — 40%-ym nastąpiło najkorzystniejsze wyzyskanie pokarmu: bakterje nie powstawały, w stosunku do potrzeb wiciowców, w nadmiarze, a równocześnie wiciowce nie głodziły się. Poza temi hodowlami, wszystkie, zawierające buljonu więcej, niż 40%, miały bakteryj ponad miarę, mogącą być użytą przez wiciowce, wszystkie, mające buljonu mniej, niż 30%, były hodowlami głodzonemi.

Absolutna ilość wytworzonych wiciowców może być rozpatrywana: w hodowlach Nr. 1 — 10 aż do chwili ich wymarcia (w ciągu 7—11 dni), w hodowlach pozostałych za okres najintensywniejszego ich życia (do 17-go dnia); okres wegetacji z powodu trudności technicznych nie był już brany pod uwagę. W hodowlach I-szej grupy największą ilość absolutną wiciowców znajdujemy w hodowli Nr. 9. (60.718 jednostek), Nr. 8 (57.956 jedn.) i Nr. 10 (57.340 jedn.), więc w tych, które najlepiej wyzyskały pożywkę (pr. Zestawienie VII a). W hodowlach, w których ilość pokarmu była większa, stopniowo malała też ilość absolutna wytworzonych jednostek, dochodząc w hodowli Nr. 1 (300% buljonu) do liczby 5.432. W drugiej grupie ilość absolutna jednostek, obrachowana za czas 17 dni, malała w miarę zmniejszania się ilości pokarmu, dochodząc do liczby 6.351 w hodowli Nr. 16 ($^1/_2$%-owy buljon), ponadto osobniki te były znacznie mniejsze, niż w grupie I-szej.

Intensywność początkowa w rozwoju omawianych hodowli była największa w hodowlach Nr. 7 — 12, a w szczególności w hodowlach Nr. 8 i 9. Dokładniejsze ustalenie różnic między temi hodowlami jest niemożliwe. Przyczyną tych trudności jest okoliczność, iż na wzmożenie się znaczne intensywności początkowej miała wpływ przedewszystkiem płytkość hodowli i ten czynnik zacierał w obserwacji wpływ ilości pożywienia. Do badań nad intensywnością początkową odpowiedniejsze są hodowle, w których rozwój z innych względów następuje wolniej, więc głębsze i zawierające mniej pożywienia.

Z doświadczeń tych wypływają następujące wnioski. Hodowle Serji VII można podzielić na dwie grupy: mające małą ilość pokarmu (przy nieznacznej procentowości buljonu i małej ilości bakteryj) i nadmiar pokarmu (przy wysokiej procentowości buljonu). W pierwszej grupie hodowle rozwijają się tem słabiej, im mniej jest bakteryj, przyczem hodowle nie wymierają, a przechodzą w stan długo trwającej wegetacji, objawiającej się w występowaniu stale nieznacznej ilości osobników, których rozmiary stopniowo maleją — hodowle takie uznać musimy za hodowle głodzone. W drugiej grupie hodowle rozwijają się tem słabiej i tem szybciej wymierają, im większa jest procentowość buljonu; wymieranie odbywa się z objawami zwyrodnienia; przyczyną jego zdają się być przedewszystkiem produkty przemiany materji, wytworzone przez masowo rozwijające się bakterje (por. str. 307). Hodowle, w których następuje najintensywniejszy rozród, przy równoczesnem wyzyskaniu pokarmu, są to hodowle o średniej procentowości buljonu, jak w doświadczeniach Serji VII-ej, 30 — 50%-ym.

Serja VIII miała za zadanie sprawdzenie wyników, otrzymanych w Serji VII przy równoczesnej zmianie temperatury, w której hodowle były trzymane, na niższą. Pozwala więc ona również poznać wpływ temperatury na rozwój *Prowazekia edax*.

Obejmuje ona tak samo 16 hodowli, oznaczonych liczbami 1 — 16. Wspólne właściwości hodowli 25 cm.³ płynu, rozlanego w butelce płasko, o powierzchni 200 cm.³, wysokości płynu 0 12 cm.; temperatura chłodni 6° — 9° C; ilość początkowa 15 wiciowców w 1 mm.³. Różnice w procentowości buljonu takie same, jak w Serji VII (pr. str. 306). Wykres VIII i Zestawienie VIII pozwalają na poznanie rozwoju tych hodowli. Hodowle te potwierdzają najzupełniej wnioski, wyprowadzone z Serji VII. I tu również najwyższa ilość maksymalna występuje w hodowlach, zawierających buljon 30 — 50%-owy. Najwyższa intensywność początkowa występuje w analogicznych hodowlach,

ZESTAWIENIE VIIIa.

Ilość jednostek dziennych *Prowazekia edax* w hodowlach Serji VIII.

Dnie	1	2	3	4	5	6	7	8
pocz.	15	15	15	75	15	15	15	15
1	32	93	93	139	160	125	125	160
2	483	500	812	1,093	812	687	187	250
3	718	843	1,500	1,720	1,875	2,117	1,875	2,562
4	750	1,250	1,750	3,500	3,760	8,750	5,750	7,500
5	421	875	2,500	3,123	3,722	10,875	12,000	8,875
6	656	750	1,562	2,965	2,625	12,125	12,750	15,750
7	160	240	875	2,805	1,840	5,250	12,500	11,500
8	0	160	750	1,402	1,737	2,000	9,375	11,340
9	—	80	96	320	360	1,953	4,687	5,625
10	—	0	0	0	0	0	3,375	2,375
11	—	—	—	—	—	—	265	145
12	—	—	—	—	—	—	0	16
13	—	—	—	—	—	—	—	0
Suma	3,235	4,306	9,953	17,084	16,906	43,897	62,904	66,113

	9	10	11	12	13	14	15	16
pocz.	15	15	15	15	15	15	15	15
1	160	109	75	75	75	140	62	109
2	312	218	187	343	421	750	625	93
3	2,812	2,117	2,062	1,000	1,375	2,000	1,562	1,250
4	6,750	7,125	8,500	3,150	4,375	2,160	1,875	500
5	7,875	9,062	8,900	3,125	2,187	937	1,250	937
6	10,500	13,125	14,125	1,750	1,875	1,250	962	625
7	9,062	11,875	7,662	1,835	1,062	625	437	312
8	8,312	4,375	3,750	781	343	234	625	593
9	9,374	5,718	4,125	265	156	265	468	195
10	5,625	3,750	2,500	215	239	265	902	328
11	2,124	2,500	2,016	192	160	265	701	328
12	437	1,562	1,875	160	160	250	460	236
13	0	437	560	187	320	109	320	218
14	—	0	16	187	187	203	230	160
15	—	—	16	245	215	160	460	144
16	—	—	0	430	192	144	460	160
17	—	—	—	—	—	—	245	218
Suma	63,358	61,988	56,384	13,955	13,457	9,772	11,739	6,421

ZESTAWIENIE VIIIb.

Maksymalna ilość jednostek dziennych w hodowlach Serji VIII.

Hodowla Nr.	Dnie	Ilość maks.
1	4	750
2	4	1,250
3	5	2,500
4	4	3,500
5	4	3,760
6	6	12,125
7	6	12,750
8	6	15.750
9	6	10,500
10	6	13,125
11	6	14,125
12	4	3,125
13	4	4,375
14	4	2,160
15	4	1,875
16	3	1,250

20 — 75%-ych. Czas trwania hodowli jest nieco dłuższy, jednak i tu można je podzielić na dwie prawie takie same grupy: hodowle Nr. 1 do 10 włącznie, które wymarły w ciągu maksimum 15 dni i Nr. 12—16, które w dniach od 9 — 12 przeszły w stan wegetacji.

hodowla Nr. *11* wymarła w 16 dni
„ „ *10* — 14 „
„ „ *9 i 8* — 13 „
„ „ *7—2* — od 12 — 10 dni
„ „ *1* — w 7 dni.

Najwyższą absolutną ilość jednostek znajdujemy w hodowlach Nr. 6 — 11.

Różnice zasadnicze w rozwoju hodowli z Serji VIII (w temp. 6° C.) i VII (w temp. 20 — 21° C.) polegają na tem, że: w temperaturze niższej czas trwania hodowli jest dłuższy, niż w wyższej i że ilość maksymalna jednostek jest znacznie mniejsza, niż w temperaturze wyższej. Co do ilości absolutnej jednostek i intensywności początkowej, doświadczenie to nie pozwala wyciągnąć żadnych wniosków.

	w temp. 6° — 9° C.	w temp. 20° — 21°C
najwyższa ilość maksymalna	15.750	26.250
czas trwania hodowli Nr. 1—11	8 — 16 dni	7 — 11 dni.

Serja IX obejmuje szereg doświadczeń, mających na celu poznanie granic Ph, w których żyć mogą hodowle *Prowazekia edax*. Dla doświadczeń tych szczególniej korzystna jest okoliczność, że hodowle, rozlane płasko, zawierające 30 — 50%-owy buljon, mają wogóle najkorzystniejsze warunki i w kilku dniach kończą swój rozwój: umożliwia to szybkie przeprowadzenie doświadczeń.

W serjach poprzednich było stwierdzone, że *Prowazekia edax* może się rozwijać o Ph początkowem, równem 5.6 śród kwaśnych środowisk i 7.7 śród zasadowych. Celem dokładnego stwierdzenia granicy możliwej kwasowości został założony szereg hodowli o Ph = 4,5 i wyżej, w temperaturze 20 — 22° C., przy 25 cm.³ płynu, i buljonie 30% (Serja K.).

Serja K.

Hodowla o Ph początkowem	Ilość jednostek dziennych				
	początk.	po 1 dniu	po 2 dniach	po 3 dniach	po 4 dniach
4.5	15	—	—	—	0
4.6	15	—	—	0	0
4.7	15	—	—	—	0
4.8	15	—	8	64	3,500
4.9	15	—	8	64	4,612
5.3	15	—	16	1,280	8,750

Z doświadczeń Serji K wynika, że granicę kwasowości, przy której możliwy jest rozwój *Prowazekia edax* (w temp. 20 — 22° C., w ilości 25 cm.³ płynu płasko rozlanego, w buljonie 30%) stanowi Ph = 4.8.

Ażeby stwierdzić granicę zasadowości, w której następuje wymieranie hodowli, obrachowywane było Ph licznych hodowli w dniu zniknięcia w nich pierwotniaków.

Serje M. i N. obejmowały razem 18 hodowli o różnem początkowem Ph, od 4.8 do 9.6. Wspólne właściwości tych hodowli były: 25 cm.³ płynu, buljon 30%, termostat 20 — 22° C.

Serje M i N.

Nr. hodowli	Ph początkowe	Ph końcowe	Nr. hodowli	Ph początkowe	Ph końcowe	Nr. hodowli	Ph początkowe	Ph końcowe
1	4.8	8.9	7	7.6	9.0	13	8.9	9.1
2	4.9	8.8	8	7.9	9.0	14	9.0	9.1
3	5.3	8.9	9	8.1	9.1	15	9.1	9.1
4	6.3	9.0	10	8.4	9.0	16	9.3	9.3
5	6.8	9.1	11	8.5	9.1	17	9.5	9.3
6	7.5	9.1	12	8.8	9.1	18	9.6	9.3

Serja O obejmowała 5 hodowli, mających to samo stężenie jonów H· początkowe, a różniących się ilością pokarmu. Warunki wspólne były tutaj: Ph = 6.8, ilość płynu 25 cm.³, temp. 20 — 22° C. Ilość pokarmu różna: 300% — 150% — 75% — 50% — 30%. Wyniki otrzymano następujące:

Serja O.

Ilość buljonu	Ph. w momencie zamarcia hodowli
300%	8.7
150%	8.7
75%	8.8
50%	8.8
30%	8.9

Z tych dwóch doświadczeń wyciągnąć można przedwszystkiem wniosek, że hodowle *Prowazekia edax* wymierają przy różnym stopniu zasadowości. Przytem hodowle, o wszystkich innych jednakowych warunkach, mające niższe początkowe Ph, wymierają również, jak się zdaje, przy niższym Ph. Również Serja O wskazuje, że procentowość buljonu ma wpływ na wysokość Ph, przy którem hodowla zamiera. Wreszcie zwraca uwagę, że hodowle o bardzo wysokiej zasadowości, 9.5 — 9.6, wymierają przy Ph mniejszem, niż było początkowe.

Ażeby zbadać, czy poza wysoką zasadowością niema jeszcze innego czynnika, który uniemożliwiałby rozwój, zrobione zostało następujące doświadczenie. Hodowla, która wymarła przy Ph = 9.0, została zakwaszona do Ph = 8.6 i zaszczepiona ponownie wiciowcami. W ciągu dwóch dni wiciowców znaleść w hodowli nie można było. Na trzeci dzień ta sama hodowla została rozcieńczona wodą wodociągową sterylizowaną do połowy i powtórnie zaszczepiona nowemi wiciowcami; następnego dnia zjawiły się wiciowce w ilości 160 w 1 mm.³, lecz na drugi dzień już wymarły. Doświadczenie to wskazuje niewątpliwie, że nie jedynie wysokość Ph jest czynnikiem uniemożliwiającym po pewnym czasie rozwój hodowli. Jakkolwiek stężenie jonów H· ma znaczenie dla intensywności rozwoju, to jednak poza niem muszą być inne czynniki, leżące śród produktów przemiany materji, które ten rozwój w pewnym momencie powstrzymują. Utrzymanie się wiciowców po rozcieńczeniu hodowli wymarłej wodą i ponownem zaszczepieniu, wskazuje, że w pewnym, małym zresztą, stopniu, działanie tego czynnika tą drogą może być zahamowane.

Zjawiskiem, zwracającem na siebie uwagę, jest zmiana Ph w hodowlach o bardzo wysokiej zasadowości, 9.1 — 9.6, w miarę rozwoju hodowli, w ten sposób, iż wymieranie następuje przy Ph takiem samem, jakie było początkowo, albo mniejszem, pomimo, iż w ciągu trwania hodowli rozród był dość znaczny. Możliwość takiego zjawiska wyjaśnia nam następujący protokół, dotyczący rozwoju hodowli Nr. 17 i 18 z serji M.

Hodowla Nr. 17.

Dzień	Ilość jednostek	Ph
założenia	15	8.9
1	750	8.0
2	4,062	8.5
3	9,375	8.4
4	9,765	8.7
5	11,200	8.8
6	7.400	8.8
7	5,625	8.9
8	2,582	9.0
9	1,312	9.0
10	64	9.1
11	0	9.1

Hodowla Nr. 18.

Dzień	Ilość jednostek	Ph
założenia	15	9.6
1	621	8.3
2	3 437	8.4
3	10,156	8.4
4	13,750	8.9
5	11,248	9.0
6	8,750	9.0
7	3,125	9.1
8	2,187	9.1
9	1,875	9.2
10	192	9.2
11	0	9.3

W hodowlach tych nastąpiło obniżenie Ph zaraz w pierwszym dniu i to obniżenie umożliwiło rozwój wiciowców. Obniżenie takie znajdujemy wszędzie w hodowlach, mających wyższą zasadowość początkową. Bliższą analizę tego zjawiska pozostawiamy do oddzielnej pracy. Obniżenie Ph w pierwszych dniach hodowli *Prowazekia* stoi w związku z faktem, dotyczącym zmian Ph w hodowlach bakteryj, opisanym po raz pierwszy przez *Sierakowskiego* (1922). Mianowicie, wedle tego autora, bakterje w hodowlach mogą regulować Ph, zakwaszając podłoże do stopnia potrzebnego do rozwoju. Doświadczenia, wykonane przezemnie, potwierdziły słuszność tego poglądu. W doświadcz. G mamy hodowlę samych bakteryj, stanowiących pokarm *Prowazekia*; odosobnienie bakteryj dokonane zostało przez zabicie wiciowców drogą ogrzania płynu do 35° C. W hodowli tej Ph zmieniało się w następujący sposób.

Zmiana Ph w hodowli, zawierającej same bakterje, służące za pokarm *Prow. edax.*

Dzień hodowli	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Ph.	9.6	8.5	8.5	8.4	8.9	9.0	9.1	9.1	8.9	8.9

W doświadczeniu H mamy dwie hodowle, z których jedna zawiera zwykłą kulturę wiciowców z bakterjami, druga tylko bakterje. Warunki wspólne: 100 cm.³ płynu, 30% buljonu, 20 — 22° C, Ph = 8.4.

Hodowla H.

Dzień hodowli	H_1 tylko bakterje	H_2 wiciowce i bakterje
początkowy	8.4	8.4
1	8.0	7.9
2	8.0	8.0
3	8.4	8.5
4	8.4	8.5
5	8.5	8 6
6	8.6	8.7
7	8.6	8.6
8	8.6	8.7
9	8.7	8.8
10	8.7	8.9
	bakterje są	wiciowce wymarły

Doświadczenie H zdaje się wskazywać, że w pewnym stopniu i wiciowce mają zdolność do obniżania zbyt silnej zasadowości środowiska. Sprawa ta musi być jednak jeszcze metodycznie zbadana.

W rozprawie, z którą miałem możność zapoznać się dopiero w trakcie druku tej pracy, *J. H. Bodina* (1921), pierwszej, traktującej, powierzchownie zresztą, o zmianach Ph w hodowli pierwotniaków, autor wykazuje również obniżenie się Ph w ciągu początkowych 3—5 dni rozwoju. Nie można jednak z tych doświadczeń wywnioskować, czy pierwotniaki, poza bakterjami, miały także wpływ na obniżenie Ph, przytem autor nie wskazuje gatunku pierwotniaków, których używał do swych prób.

W sprawie krańcowej zasadowości początkowej środowiska, w którem mogą rozwijać się *Prowazekia edax*, ze względów technicznych nie można było uzyskać ostatecznej odpowiedzi. Środki kolorymetryczne, któremi rozporządzałem, umożliwiały oznaczenie najwyższej zasadowości Ph = 9,6. Określenia wyższego stężenia jonów H nie miałem możności. Jak widzieliśmy i w tej zasadowości wiciowce rozwijały się.

Do wniosków, dotyczących znaczenia stężenia jonów wodorowych, sformułowanych na str. 299 i 301 dodać tu jeszcze trzeba wnioski następujące. Granicę możliwej kwasowości dla hodowli *Prowazekia edax*, stanowi Ph = 4,8; granicy możliwej początkowej zasadowości, ze względów technicznych, nie można było oznaczyć; w najwyższej badanej zasadowości, przy Ph = 9,6, wiciowce rozwijały się. Końcowe stężenie jonów H w hodowlach zamarłych bywa różne, zależnie od wysokości stężenia początkowego, a możliwe, że i od innych czynników, przyczem waha się zawsze w granicach wysokiej zasadowości (8.7—9.3). W rozwoju hodowli o własnościach silnie zasadowych następuje zawsze zakwaszenie środowiska, a później stopniowa alkalizacja, przyczem zasadowość końcowa może być mniejsza, niż była nią początkowa. Wreszcie stwierdzić trzeba, że alkalizowanie się środowiska nie jest decydującym czynnikiem w wymieraniu hodowli.

Literatura, dotycząca badań nad znaczeniem pokarmu i produktów przemiany materji dla rozwoju pierwotniaków, zawiera liczne prace w zakresie wpływu tych czynników na stan hodowli i na właściwości morfologiczne pierwotniaków głodzonych albo żywionych obficie. Wyniki, otrzymane w tych pracach, dotyczące skutków obfitego żywienia (*R. Hertwig, Maupas, Calkins, Wallengren* i inni), wakuolizacji plazmy i zmiany kształtów komórki, „zwyrodnienia" jej, odpowiadają wynikom, otrzymanym w naszych doświadczeniach. *Woodruff* (1912, 1913), *Peters* (1908) i inni, w badaniach nad znaczeniem pokarmu i produktów przemiany materji dla życia hodowli, dochodzą do wniosku, że decydującą rolę posiadają pro-

dukty przemiany, które nagromadzone powodują wymarcie pierwotniaków. Metodycznie przeprowadzone studja w tym kierunku stanowią prace *J.* i *T. Viewegerów* (1918 — 21) nad znaczeniem pokarmu dla rozwoju *Colpidium colpoda*; znajdujemy tam też zestawienie całej, niezbyt obfitej zresztą, literatury w tej dziedzinie. *Viewegerowie* w pracach swych, obejmujących różne właściwości hodowli żywionych i głodzonych, ich krzywe rozwojowe, tempo podziału osobników, stosunek do ilości bakteryj, zmiany morfologiczne i in., dochodzą do wniosku, że „decydującym czynnikiem w rozwoju kultury jest pokarm, jego ilość lub brak“ (*J.* i *T. Viewegerowie* 1921). W ostatniej swej pracy (*T. Vieweger* 1922) autorowie ci czynią jednak pewne rozgraniczenie, przypisując wybitną rolę głodowi w hodowlach t. zw. „trofodynamicznych“, w których „gromadzenie się produktów przemiany materji nie ogranicza możności wyzyskania pokarmowego podłoża... w przeciwstawieniu do hodowli heterodynamicznych, w których, oprócz powyższego czynnika, zaznacza się w większym zakresie szkodliwe działanie produktów przemiany“. Rozgraniczenie to odpowiada temu, które uczyniliśmy śród hodowli Serji VII, jednakże doświadczenia nasze zdają się wskazywać w wyższym stopniu na ograniczenie znaczenia pokarmu przez produkty przemiany materji, niż mamy to w pracach *Viewegerów*. Znaczeniu wielkości powierzchni hodowli dla jej rozwoju poświęcone są w literaturze liczne wzmianki. Metodyczne studjum w tym kierunku, jak się zdaje jedyne, stanowi praca *H. Mędrkiewiczówny* (1921). Autorka podaje wyniki, dotyczące badań nad rozwojem *Colpidium colpoda* w naczyniach o powierzchniach różnej wielkości. Wnioski, dotyczące intensywności początkowej rozwoju i maksymalnej ilości dziennej jednostek, są analogiczne do uzyskanych w naszej pracy. *Mędrkiewiczówna* dochodzi również do wniosku, że „możliwości rozwojowe pierwotniaków w kulturze, zarówno jak i możliwości wyzyskania podłoża odżywczego przez wymoczki, zależą nie tylko od zawartości pokarmu w podłożu, ale i od warunków wymiennych ze środowiskiem... Ograniczony dostęp tlenu, gromadzenie się produktów przemiany materji zatrzymuje w kulturach o małej powierzchni cieczy rozwój pierwotniaków — kładąc kres zużytkowaniu środowiska odżywczego“. Doświadczenia nasze nad hodowlami z Serji VII i VIII zdają się uprawniać do rozciągnięcia tych wniosków i na hodowle o dużej powierzchni cieczy.

STRESZCZENIE.

Z doświadczeń omówionych wyciągnąć można następujące wnioski, dotyczące znaczenia dla hodowli *Prowazekia edax* stężenia jonów wodorowych, ilości pokarmu, stosunku powierzchni hodowli do jej objętości i temperatury.

1) Początkowe stężenie jonów H ma znaczenie: a) początkowej intensywności rozrodu (wyrażającej się w ilości wiciowców, występujących w kolejnych dniach rozwoju hodowli), dla maksymalnej ilości dziennej wiciowców (stanowiącej największą ilość dzienną wi-

ciowców, jaka powstaje w danej hodowli) i dla absolutnej ich ilości (odpowiadającej ogólnej ilości jednostek dziennych wiciowców za cały czas trwania hodowli). Początkowa intensywność rozrodu jest największa w hodowlach (w warunkach: 250 cm.³ płynu = 55 cm.²× 4.5 cm., 5% buljonu i temp. koło 20°C), mających stężenie jonów H· równe 6,2—6,6. Maksymalna dzienna ilość jednostek (w tych samych warunkach) powstaje największa w hodowlach o początkowem stężeniu jonów H· średniem, przy Ph = 6.8—7.0, więc o reakcji hodowli słabo kwaśnej i obojętnej, przyczem maksymalna dzienna ilość jednostek występuje w hodowlach, różniących się początkowem Ph w różnym czasie, co wpływa na charakter krzywej rozwoju; w hodowlach kwaśnych dopiero po pewnem zalkalizowaniu się środowiska. Hodowle alkaliczne wytwarzają najmniejsze maksymalne ilości dzienne wiciowców. Absolutna ilość jednostek powstaje mniejsza w środowiskach silnie alkalicznych, niż w słabo alkalicznych i kwaśnych. Granice Ph, w których wogóle możliwy jest rozwój *Prowazekia edax*, sięgają od Ph = 4,8 do powyżej 9,6, przyczem granica maksymalnej początkowej zasadowości nie została oznaczona. Zmiany, którym ulega Ph w miarę trwania hodowli, polegają w ostatecznym wyniku na zalkalizowaniu środowiska, przyczem hodowle o początkowej wysokiej zasadowości ulegają wpierw zakwaszeniu; czynnikiem, zakwaszającym środowisko, są przedewszystkiem bakterje; udział wiciowców w tym procesie nie został stwierdzony. Zakwaszanie to powoduje w rezultacie, że wymieranie hodowli może zajść w warunkach mniejszej zasadowości, niż a, jaka była na początku jej rozwoju. Zalkalizowanie ostateczne środowiska w hodowli wymierającej bywa różne, zależnie od stopnia początkowego stężenia jonów H·; hodowle kwaśne wymierają przy Ph niższem, niż hodowle alkaliczne. Na ostateczne zalkalizowanie środowiska możliwy jest wpływ jeszcze innych czynników, np. pokarmu, temperatury. Dane te wskazują, że decydującym czynnikiem w wymieraniu hodowli (posiadającej dostateczną ilość pokarmu, odpowiednią temperaturę i najkorzystniejszy stosunek powierzchni do objętości) nie jest jej alkalizowanie się.

2) Ilość pokarmu, wyrażona w doświadczeniach procentowością buljonu, za którą szło równolegle zwiększanie się ilości bakteryj, bezpośrednio pobieranych przez wiciowce (o możliwości osmotycznego żywienia się *Prowazekia edax* nie mamy żadnych danych) ma dla rozwoju hodowli znaczenie następujące. Przy średniej ilości buljonu, jak w warunkach doświadczenia przy 30%—40%-ym buljonie (w warunkach pozostałych : 25 cm.³ płynu = 200 cm.² × 0.12 cm., temp. 20—22° C., Ph=6.9) intensywność rozrodu (więc intensywność początkowa, maksymalna i absolutna ilość wytworzonych wiciowców) staje się największa. W miarę zwiększania się procentowości buljonu, a tem samem zwiększania się ilości bakteryj, intensywność rozrodu zmniejsza się stopniowo, przyczem coraz szybciej następuje wymieranie wiciowców, z objawami zwyrodnienia; na zasadzie szeregu danych uczyniliśmy przypuszczenie, że przyczyną zwyrodnienia stają się przedewszystkiem nagromadzone przez bakterje produkt

przemiany materji. Z drugiej strony, w miarę zmniejszania się ilości buljonu poniżej 30% następuje również zmniejszanie się intensywności rozrodu oraz zmniejszanie się wielkości wiciowców, które w stanie wegetacji (t. j. przy nieznacznej ilości osobników w 1 mm.^{3}) utrzymują się przez czas dłuższy; trzeba przypuścić, że przyczyną takiego stanu hodowli jest jej głodzenie się. Wynika z tych doświadczeń, że znaczenie pokarmu dla rozwoju *Prowazekia edax* jest ograniczone, i że intensywność rozwoju hodowli nie jest ściśle zależna od ilości dostarczonego jej pokarmu.

3) Stosunek wielkości wolnej powierzchni hodowli do jej objętości ma wpływ na ilość maksymalną jednostek dziennych, na intensywność początkową i na czas trwania hodowli. Im płytsza jest hodowla, tem wyższa staje się ilość maksymalna jednostek dziennych, tem prędzej występuje, tem szybszy jest rozród początkowy i tem krótszy czas trwania hodowli. Podczas gdy w hodowli, zawierającej 750 cm^3 płynu, o głębokości 13,6 cm^3 (przy Ph = 6,9, buljonie 5%, powierzchni 55 cm^2), wytwarza się ilość maksymalna jednostek w dniu 12-ym, w rozmiarze 2062—w hodowli, zawierającej 25 cm^3, o głębokości 0,12 cm^3 (o powierzchni 200 cm^3 i takich samych innych warunkach) wytwarza się w dniu 4-ym osobników 8000. W hodowli, jak ostatnia, jednak z 40%-ym buljonem, wytwarza się w dniu 3-im osobników 26,250.

4) Temperatura, zbadana w tej pracy tylko przygodnie, ma znaczenie dla rozwoju hodowli *Prowazekia edax* w tym kierunku, że w wyższej temperaturze czas trwania hodowli staje się krótszy, zaś maksymalna ilość jednostek dziennych staje się większa.

PIŚMIENNICTWO.

1) Anigstein L. Badania serologiczne nad pierwotniakami. Przegl. Epidemjol. 1921, I. 558.

2) Bodine Jos. Hall. Hydrogen-Jon Concentration of Protozoan Cultures—Biological Bull. 1921, XLI, 73—77.

3) Doflein F. Lehrbuch der Protozoenkunde. V, Aufl. Jena 1916.

4) Hartmann M. i Schilling C. Die pathogenen Protozoen 462, I. Springer. Berlin. 1917.

5) Kühn A. Ueber Bau, Teilung u. Encystierung von *Bodo edax* Klebs. — Arch. f. Protistenkunde. 1915, XXXV, 212.

6) Mędrkiewiczówna H. Wpływ wielkości powierzchni cieczy na rozwój kultur wymoczków (Colpidium colpoda Erb.) — Prace Zakł. Fizjol. Instyt. M. Nenckiego. (Tow. Nauk. Warsz.) 1921, I, Nr. 5.

7) Ponselle A. Sur la culture des trypanosomes. — C. R. Soc. Biol. 1919, LXXXII, 163.

8) Ponselle A. Determination de la réaction des milieux de culture par la mesure de la concentration en ions hydrogène. — Bull. de l'Inst. Pasteur 1920, XVII, 601.

9) Peters A. Chemical studies on the cell and its medium. P. III. Amer. Journ. f. Physiol. 1908, XXI, 681.

10) Prowazek S. Giftwirkung und Protozoenprotoplasma. — Arch. f. Protistenkunde 1910, XVIII, 221.

11) Sierakowski S. O znaczeniu i metodach określania koncentracji jonów wodorowych (H·) — Przegl. Epidemjol. 1921, I, 549.

12) Sierakowski S. Badania nad pożywkami I. Zależność wzrostu bakteryj chorobotwórczych na podłożach agarowych od czynników fizycznych. — Przegl. Epidemjol. 1922, II, 1.

13) Viewegerowie J. i T. Badanie czynników rozwoju kultur Colpidium colpoda. Ehrb. Cz. I. Wpływ pokarmu — głód. — Spraw. Tow. Nauk. Warsz. Wydz. Mat.-Przyr. 1918, XI, 847.

14) Vieweger T. Dtto. Cz. II Zależność rozwoju wymoczków od rozwoju bakteryj. — Ibid. 1918, XI, 661.

15) Viewegerowa J. i Vieweger T. Dtto Cz. III. Wpływ ilości pokarmu i głód. — Prace Zakł. Fizjologji Instytutu im. M. Nenckiego (Tow. Naukowe Warszawskie). 1921, I, 1.

16) Viewegerowa J. Badania morfologiczno-fizjologiczne nad Colpidium colpoda Ehrb. w czasie głodu.—Ibid. 1921, I, 9.

17) Vieweger T. Działanie produktów przemiany materji w hodowlach wymoczków. — Ibid. 1921, Nr. 12.

18) Woodruff L. Obserwations on the origin and sequence of the protozoan fauna of hay infusion. — Journ. of exper. Zool. 1912, XII, 64.

19) Woodruff L. The effect of excrection products of Paramaecium. — Ibid. 1913, XIV, 145.

De l'Institut Epidémiologique d'État à Varsovie.
(Directeur Dr. L. Rajchman).

La signification de la concentration en ions H·, de la quantité de la nourriture et du rapport de la surface de la culture à son volume dans le développement du flagellé *Prowazekia (=Bodo) edax.*

Dr. HENRYK RAABE.
agregé de l'Université du Cracovie.

Les recherches de l'auteur portaient sur l'influence des différents facteurs sur la culture de *Prowazekia edax.* L'auteur a étudié l'influence de la concentration initiale en ions H·, l'influence de la quantité de la

nourriture, le rapport entre la surface de la culture et son volume, et l'influence de la température.

1) La concentration initiale en ions H· (c'est à dire la concentration que possède le milieu au moment de la mise de la culture) est importante pour l'intensité initiale de la reproduction, pour le nombre maximum d'individus évolués par jour et pour leur nombre absolu. L'intensité de la culture se traduit par le nombre des flagellés evolués pendant les journées succesives d'évolution de la culture. Le nombre maximum par le nombre le plus grand d'individus developpés par jour, le nombre absolu — par le nombre total des flagellés, évolués pendant tout le cours de la durée de la culture.

L'intensité initiale de la reproduction se montre la plus marquée dans les cultures possédant Ph 6,2 — 6,6 (dans les conditions de 250 ccm. de liquide = 55 ccm. × 4,5 cm,. 5% de bouillon et à la temp. de 20° C.). Le nombre maximum d' individus évolués par jour s'obtient dans les cultures dont la concentration initiale est de Ph 6,8 — 7, c'est à dire d'une réaction faiblement acide ou neutre. Ce nombre maximum s'obtient au différent temps dans des différentes cultures, le temps d'apparition du nombre maximum diffère d'une culture à l'autre en dépendance de leur Ph initial, ce que donne une courbe spéciale du développement. Dans les cultures acides le nombre maximum se produit après une certaine alcalisation du milieu; avec le degré de l'alcalisation le nombre maximum et absolu tombe.

Les limites de Ph dans lesquelles se développe le *Prowazekia edax* sont de Ph 4,8 — 9,6 et au dessus. La limite supérieure de la réaction alcaline ne fut pas determinée.

A mesure que le *Prowazekia edax* se développe, le milieu devient de plus en plus alcalin, mais les cultures dont l'alcalinité initiale est très elevée s'acidifient d'abord. L'acidification du milieu est due en première ligne aux microbes qui y pillulent.

Le rôle des flagellés dans cette action ne fut pas constaté.

A cause de l'acidification l'arrêt du développement peut avoir lieu dans une alcalinité finale moindre que celle de la mise en culture. L'alcalinité finale du milieu dans une culture dépend de la concentration initiale en ions H; dans les cultures acides le développement s'arrête au Ph moins élevé que dans les cultures alcalines.

Ces données prouvent que l'alcalinisation du milieu (toutes conditions favorables: la température, la nourriture, le rapport de la surface à son volume) ne devient pas le facteur decisif d'arrêt du développement.

2) La quantité de la nourriture (qui se traduit par le pourcentage du bouillon et l'augmentation proportionelle du nombre des microbes digérés par les flagellés) possède pour le développement de la culture une signification suivante. La quantité du bouillon étant moyenne comme en cas d'expérience de 30% — 40% (les autres conditions égales à: 25 ccm. de liquide = 200 ccm.,×0,12 cm., temp. 20° — 22° C. Ph 6.9) l'intensitè du dé-

veloppement (c. à d. l'intensité initiale, le nombre maximum et le nombre absolu de flagellés) devient la plus prononcée.

A mesure qu'on augmente la quantité du bouillon et de même le nombre de microbes — l'intensité de la reproduction diminue de plus en plus. Le développement des flagellés s'arrête, précédé des phenoménes des dégénérescence, dus probablement à l'accumulation des produits de dechet microbiens.

D'autre part la dimunition de la quantité du bouillon au dessous de 30% produit l'abaissement de l'intensité de la reproduction des flagellés et la dimunition de leur volume, le manque de nourriture en est la cause.

Il suit de ces études que la nourriture peut devenir nocive pour la culture des *Prowazekia edax* et que l'intensité du developpement de la culture ne depend pas strictement de la quantité de nourriture delivrée.

3) Le rapport entre la surface libre de la culture et son volume possède une influence sur le nombre maximum d'individus evolués par jour, sur l'intensité initiale du développement et sur la durée de la culture.

Les meilleurs résultats s'obtiennent dans une culture peu profonde.

Dans une culture contenant 750 ccm. de liquide, de profondeur égale à 13,6 cm. (Ph — 6.9, 5% de bouillon., surface — 55 cm.^{2}) le nombre maximum s'obtient le deuxième jour et est égal à 2062 individus, dans une autre culture ne contenant que 25 ccm. et une profondeur de 0,12 ccm. (la surface égale à 200 cm.^{2} et toutes choses égales d'ailleurs) le nombre d'individus etait 8000 au 4-me jour. Dans une culture comme la dernière, mais ayant la quantité de bouillon augmentée à 40%, le nombre d'individus est égal á 26,250 le 3-me jour.

4) L'influence de la température ne fut étudiée qu'en passant. On a observé que dans une température plus élevée le nombre maximum par jour augmente, mais la durée de la culture diminue.

Les explications des diagrammes.

DIAGRAMME I.

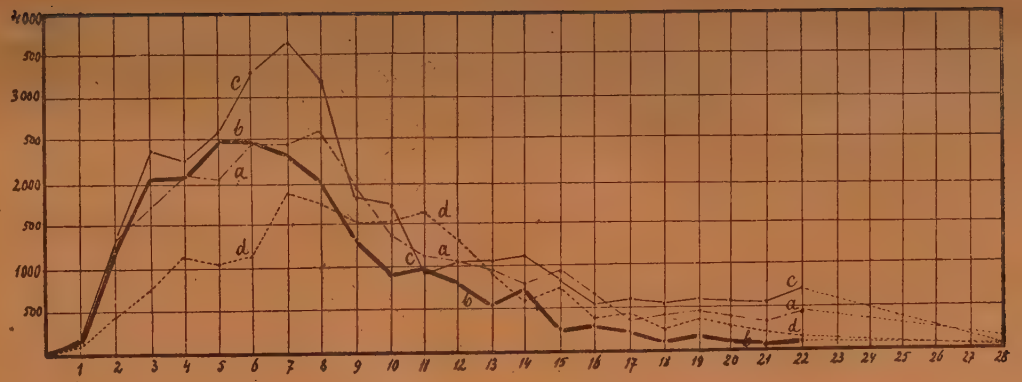
Culture *a* — bouillon à 5%, temp. 20°—21° C. Culture *b* — comme *a*, mise simultanément dans plusieurs recipients. Culture *c* — comme *a*, bouillon à 10%, Culture *d* — bouillon à 5%, temp. 15° — 18° C.

DIAGRAMME II.

Cultures à différentes concentrations primitives en ions d'H: *m* — 5.6, *n* — 6.4. *b* — 6.9, *p* — 7.7.

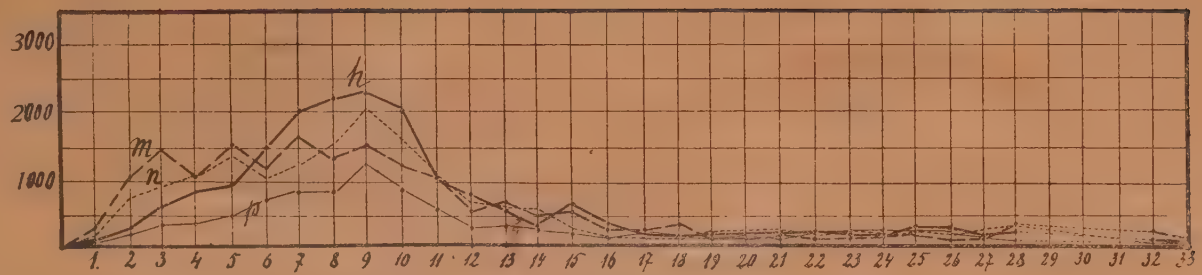
DIAGRAMME III.

Cultures à différentes concentrations primitives en ions d'H: № 1 — moins que 4 8, № 2 — 4.8, № 3 — 6 2, № 4 — 6.6.



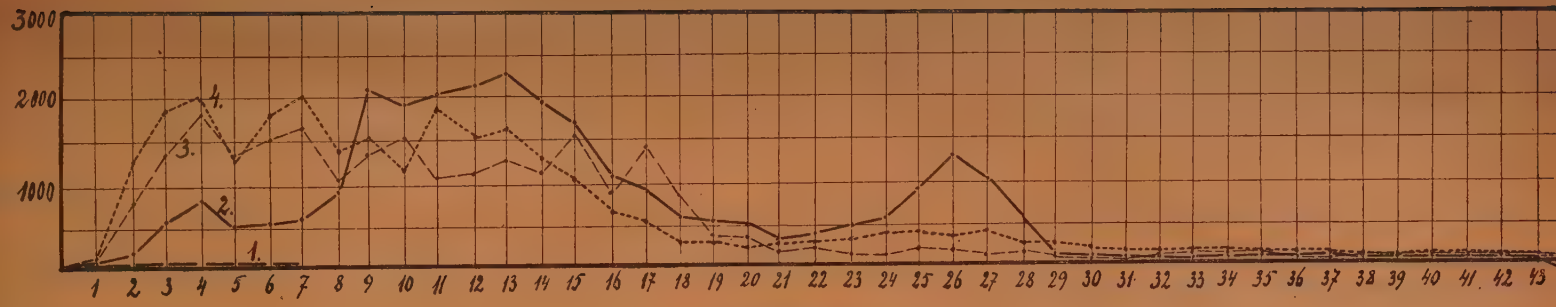
WYKRES I.

Hodowla *a* — buljon 5%-wy, temp. 20—21° C.; hodowla *b* — jak *a*, trzymana w kilku naczyniach równocześnie; hodowla *c* — jak *a*, buljon 10%-wy; hodowla *d* — buljon 5%-wy, temp. 15—18° C.



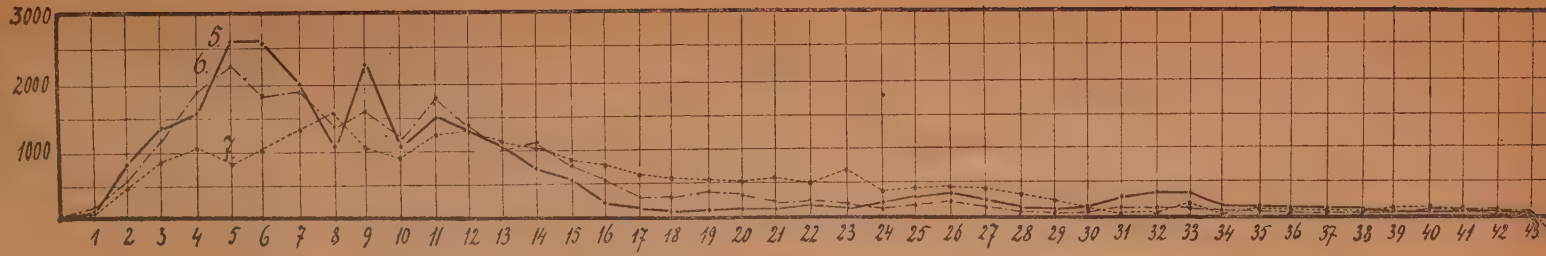
WYKRES II.

Hodowle różnią się początkowem stężeniem jonów H': *m* — 5.6, *n* — 6.4, *b* — 6.9, *p* — 7.7.



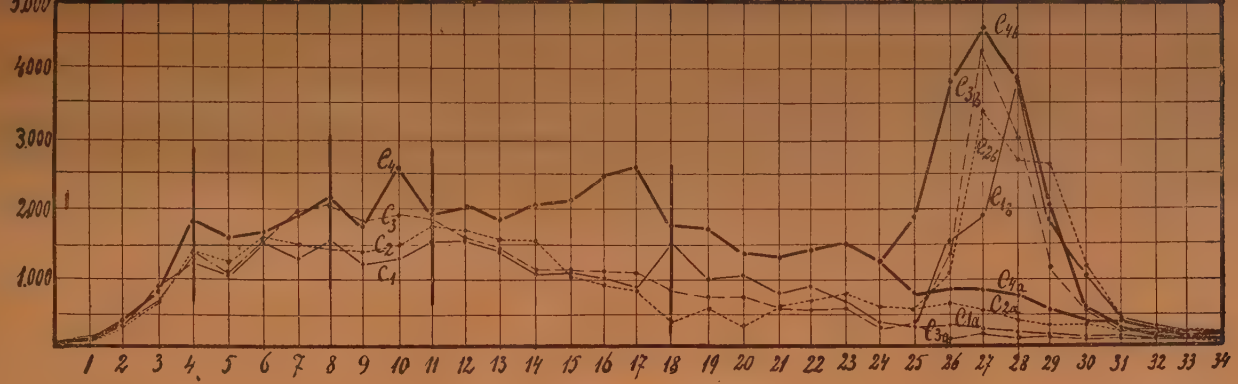
WYKRES III.

Hodowle różnią się początkowem stężeniem jonów H': *Nr. 1* — mniej niż 4.8, *Nr. 2* — 4.8, *Nr. 3* — 6.2, *Nr. 4* — 6.6.



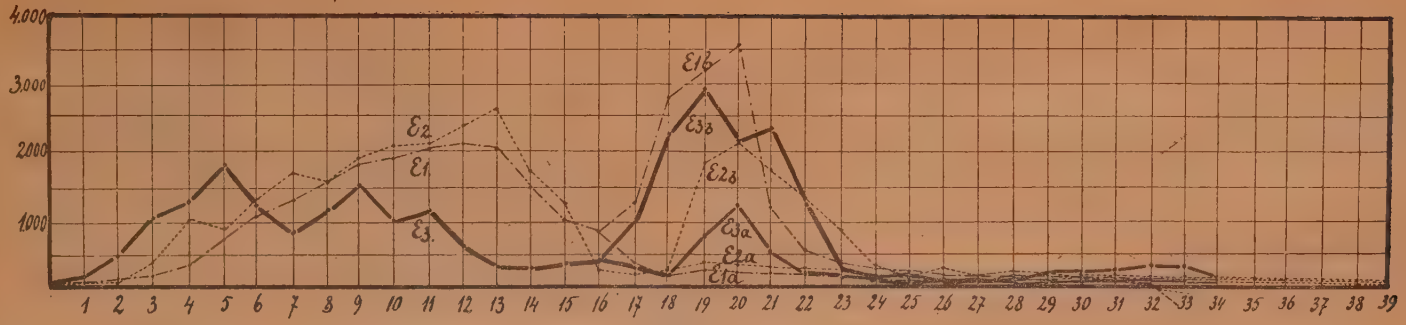
WYKRES IV.

Hodowle różnią się początkowem stężeniem jonów H': *Nr. 5* — 7.0, *Nr. 6* — 7.3, *Nr. 7* — 7.6.



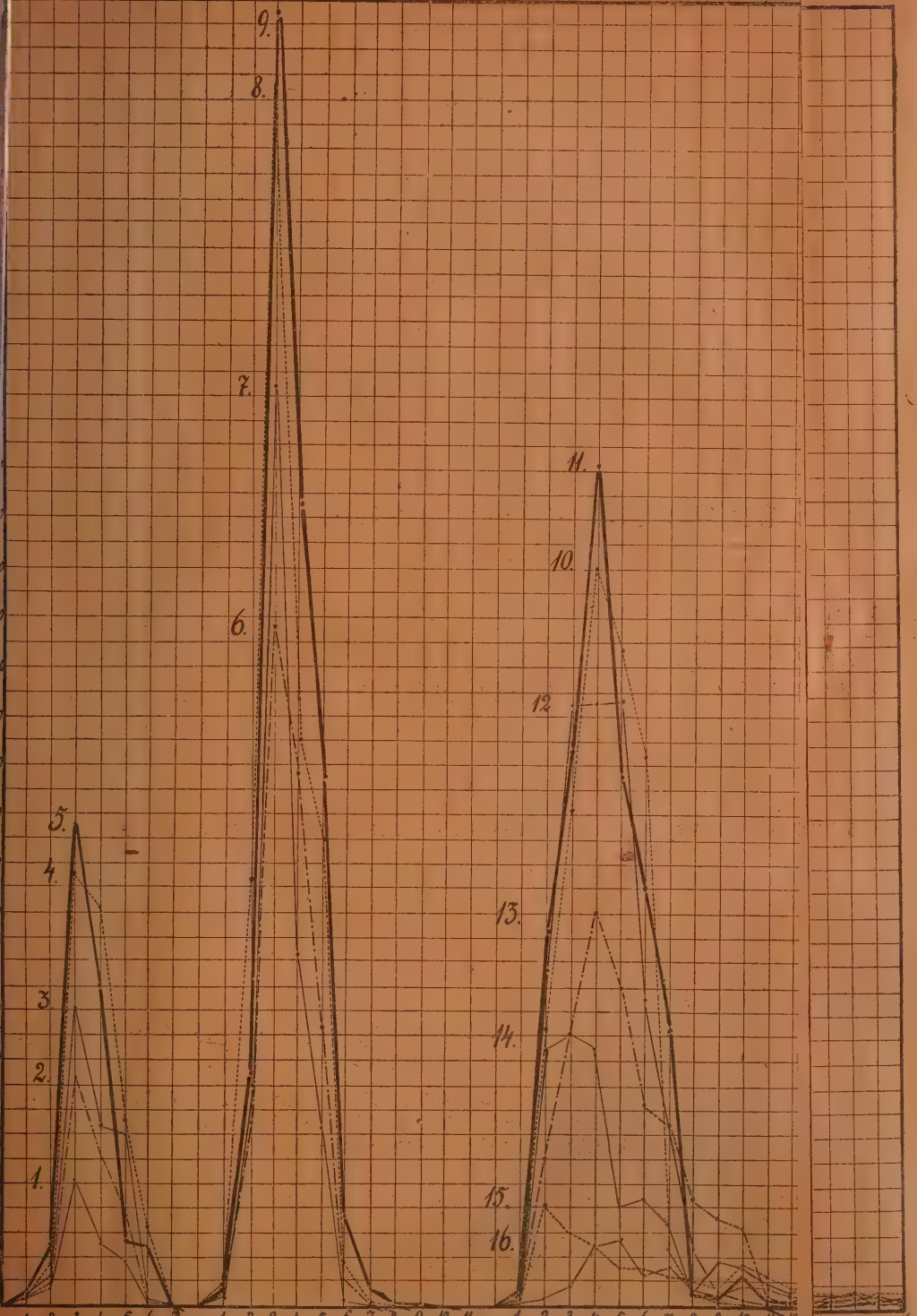
WYKRES V.

W hodowli C_1 środowisko stopniowo alkalizowało się i zużywał się pokarm. W hodowli C_2 utrzymywana była ilość pokarmu stale na tym samym poziomie. W hodowli C_3 utrzymywana była kwasowość początkowa 6.5. W hodowli C_4 — jedno i drugie. W hod. *a* i *b* zmieniony został stosunek powierzchni do objętości w porównaniu ze stosunkiem tym początkowo, jak 28 : 17 : 1.



WYKRES VI.

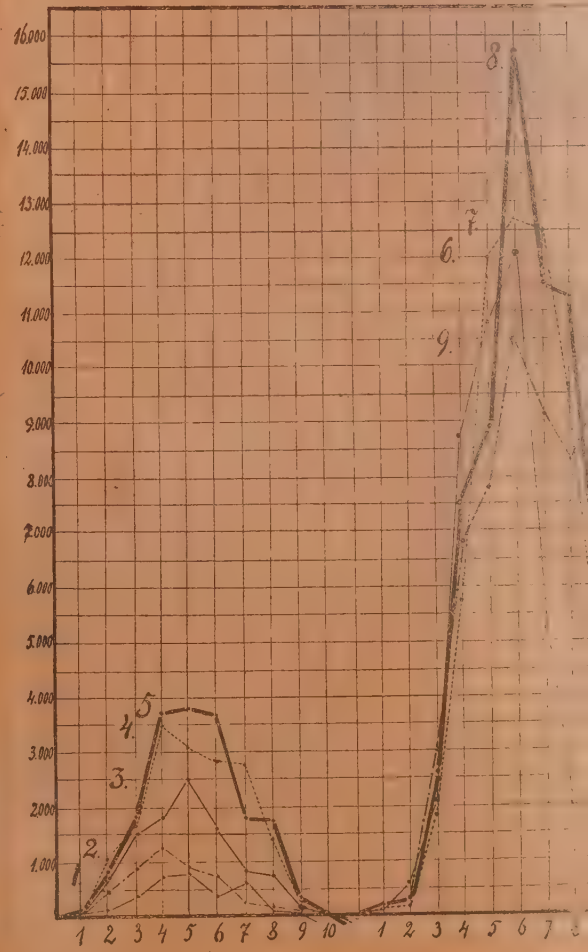
Hodowle różnią się stosunkiem powierzchni do objętości — $E_1 : E_2 : E_3 = 2.4 : 1.6 : 1$. Hodowle *b* powstały z odlania 25 cm.³ płynu na głębokość 0.12 cm.



WYKRES VII.

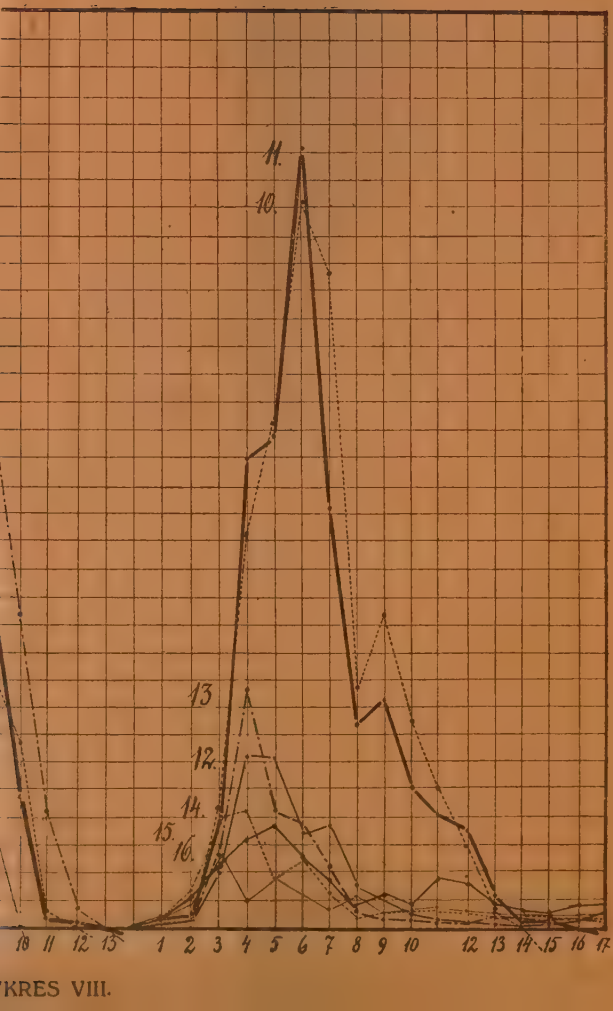
Wykres VII. ½ Hodowle, o objętości płynu 25 cm³, z towością buljonu: *Nr. 1* — 300%, *Nr. 2* — 270%, *Nr. 7* — 60%, *Nr. 8* — 50%, *Nr. 9* — 40%, *Nr. 15* — 1%,

Wykres VIII. Hodowle, jak w Serji VII-ej.



ierzchni 200 cm.² i głębokości 0.12 cm., różnią się procen-
3 — 240/0, *Nr. 4* — 180/0, *Nr. 5* — 150/0, *Nr. 6* — 75/0
Nr. 11 — 20/0, *Nr. 12* — 10/0, *Nr. 13* — 5/0, *Nr. 14* — 2½0/0
— ½/0. Temp. 20—21° C.

—9° C.



KRES VIII.

DIAGRAMME IV.

Cultures à différentes concentrations primitives en ions d'H: № 5 — 7.0, № 6 — 7.3, № 7 — 7.6.

DIAGRAMME. V.

Culture C_1 — milieu dévenant de plus en plus alcalin et la nourriture s'epuisait. Culture C_2—quantité de nourriture gardée toujours au même niveau. Culture C_3 — l'acidité primitive gardée toujours au même niveau, Ph = 6.5. Culture C_4 — la nourriture et l'acidité comme celle des deux cultures precèdantes. Dans les cultures *a* et *b* le rapport entre la surface et le volume relativement à leur rapport primitif est changé comme 28 : 17 : 1.

DIAGRAMME. VI.

Les cultures diffèrent par leur rapport entre la surface et le volume — $E_1 : E_2 : E_3 = 24 : 16 : 1$. Les cultures *b* sont enlevées des cultures précedentes et possèdent 25 ccm. de liquide en 0.12 cm. de profondeur.

DIAGRAMME VII.

Cultures ayant 25 ccm. de liquide, 200 cm. de surface et 0.12 cm. de profondeur diffèrent par le pourcentage du bouillon. № 1—300%. № 2—270%, № 3—240%, № 4 — 180%, № 5 — 150%, № 6 — 75%, № 7 — 60%, № 8 — 50%, № 9 — 40%, № 10 — 30%, № 11 — 20%, № 12 — 10%, № 13 — 5%, № 14 — 2½%, № 15 — 1% № 16 — ½%. Temp. 20° — 21° C.

DIAGRAMME VIII.

Cultures, comme en série VII. Temp. 6° — 9° C.

Z Zakładu Bakterjologicznego Uniwersytetu Warszawskiego
(Dyrektor Prof. R. Nitsch).

Przyczynek do działania bakterjobójczego wody utlenionej.

P o d a ł

Dr. D. RYWOSZ.

Od czasu, gdy *A. Shmith* w r. 1869 zwrócił uwagę na wodę utlenioną, jako na środek dezynfekcyjny, w piśmiennictwie zjawiło się wiele prac, poświęconych temu przedmiotowi. Śmiało można powiedzieć, że o żadnym środku odkażającym nie dyskutowano tyle, co o wodzie utlenionej. (Stare piśmiennictwo podają *Chamberlain* i *Fernbach* 1892, *Traugott* 1893, najnowsze: *E. R. Croner* 1909, *A. Miller* 1921).

Wodę utlenioną stosowano lub przynajmniej proponowano do dezynfekcji ścian, ustępów, naczyń, do odkażania produktów spożywczych: mleka kiełbasy, do odkażania ran, w chirurgji, ginekologji, dentystyce i kosmetyce. Z biegiem czasu liczba zwolenników tego środka nietylko nie zwiększyła się, lecz przeciwnie zmalała; przyczyną jest prawdopodobnie to, że dotychczas nie wyjaśniono ani siły dezynfekcyjnej wody utlenionej, ani na czem właściwie polega jej działanie odkażające. *Kobert* [1]), *Spiro* [2]) i inni podają, że $H_2 O_2$ jest środkiem dezynfekcyjnym o słabej sile, natomiast *Chamberlain* [3]), *Houswell* [4]), a w ostatnich czasach *Poulson* [5]) twierdzą, że 3% woda utleniona oddziaływa co najmniej tak silnie antyseptycznie, jak rozczyn sublimatu 1 : 1000. *Croner* [6]) stara się wyjaśnić tę różnicę zdań. Według jego badań siła dezynfekcyjna wody utlenionej zależna jest od oddziaływania środowiska: najsilniej działa ona w środowisku kwaśnem, słabiej w zasadowem, najsłabiej w obojętnem. Jeszcze w wyższym stopniu zależy od ciepłoty. Jak zobaczymy później, siła ta zależy także od gatunku bakteryj. Co do pytania, na czem polega właściwość odkażająca wody utlenionej, to przeważnie, jak podają *Küster* [7]), *Croner*, *Beck* [8]), *Poulson*, panuje pogląd, że tlen, wytwarzający się podczas rozkładu $H_2 O_2$, jest czynnikiem, zabijającym bakterje. *Küster* stara się uzasadnić to przypuszczenie zapomocą badań nad wodą kanałową. Wiadomo, że woda kanałowa podlega czasem samooczyszczeniu; zjawisko to przypisywano różnorodnym wpływom, które *Küster* wymienia w swojej pracy, a mianowicie: 1) wpływowi

słońca, 2) ruchowi wody, 3) chemicznemu składowi gruntu, 4) faunie, 5) utlenieniu przez powietrze. *Küster* badał specjalnie wpływ powietrza. Przepuszczał on przez naczynie, w którem znajdowała się woda kanałowa, powietrze. Po pewnym czasie stwierdzał zmniejszanie się w wodzie takiej ilości drobnoustrojów, coprawda nieznaczne.

Küster powołuje się na fakt, że ozon jest silnym środkiem dezynfekcyjnym dzięki swej właściwości oddawania tlenu, i działalność wody utlenionej porównywa z ozonem, przyczem zaznacza różnicę: ozon oddziaływa bezpośrednio, $H_2 O_2$ musi być poprzednio rozszczepiona i to właśnie rozszczepianie wywołuje katalaza, znajdująca się w bakterjach. Z tego twierdzenia wynikałoby, że bakterje same wytwarzają dla siebie truciznę, co z biologicznego punktu widzenia byłoby niezrozumiałe. Oprócz tego *Küster* zapomina, że wobec ozonu wytwarza się tlen atomowy (O), zaś przy rozszczepieniu wody utlenionej przez platynę koloidalną albo przez katalazę wydziela się tlen molekularny (O_2).

Pogląd, że tlen, tworzący się podczas katalazy wody utlenionej, działa zabójczo na bakterje, nie zgadza się ze spostrzeżeniami chirurgów. *Honswel* podaje, że jednocześnie z powiększeniem się siły katalitycznej środowiska zmniejsza się siła antyseptyczna wody utlenionej. W jednej z ostatnich swych prac zajmuje się tą sprawą *A. Millller*[9]). Powołując się na moją pracę z 1907 r.[10]) „O katalizie wody utlenionej przez krwinki ssaków", przypuszcza, że nie tlen, wytwarzający się podczas katalizy, zabija drobnoustroje, lecz sama woda utleniona. W pracy swej dowiodłem, że im silniej katalizuje pewien gatunek krwinek, tem odporniejszy jest on na działanie $H_2 O_2$. Z tego wywnioskowałem, że proces katalityczny jest raczej czynnikiem o charakterze ochronnym niż, odwrotnie (jak to przypuszcza *Küster*). Z doświadczeń *Millera* przytaczam tylko następujące. *Jorns*[11]) wykazał, że w świeżych hodowlach buljonowych bakteryj w samym buljonie niema katalazy, w starych zaś hodowlach katalaza występuje i to im starsza hodowla, tem więcej katalazy. *Miller* brał filtrowany buljon ze starych hodowli *b. coli*, zasiewał nań pewną ilość świeżych *bact. coli*, dla kontroli zasiewał taką samą ilość bakteryj na świeżym buljonie, poczem zauważył, że w pierwszej porcji do zabicia bakteryj potrzeba było więcej wody utlenionej, niż w drugiej. Na zasadzie tego doświadczenia i innych podobnych, autor wnioskuje, że antyseptycznie działa nie wytwarzający się tlen, lecz nierozszczepiona woda utleniona.

Zanim jeszcze poznałem prace *Millera*, zacząłem opracowywać ten sam temat porównawczo, jak to uczyniłem z krwinkami ssaków. Praca *Marji Rywosz* i moja[12]) oraz praca *Jornsa* ustaliły fakt, że rozmaite bakterje rozszczepiają w różnym stopniu wodę utlenioną. Stopień rozszczepiania jest dla każdego gatunku o tyle charakterystyczny, że *Bujwid*[13]) proponuje na podstawie swych doświadczeń wyzyskać tę właściwość w celu szybkiego odróżniania bakteryj w czasie epidemji.

Do badań tu omawianych wybrałem następujące gatunki drobnoustrojów, różniące się między sobą własnościami katalitycznemi: *staphyl. aureus, bact. coli, paratyphus B., typhus i vibrio cholerae.* W szeregu tym każdy następujący gatunek katalizuje słabiej, niż poprzedni.

Do probówek ze świeżym buljonem lub fizjol. rozczynem NaCl dodawane były bakterje z hodowli na agarze aż do wyraźnego zmętnienia; otrzymane zawiesiny bakteryj, po 1 cm^3, rozlewano do probówek, zawierających różne określone ilości H_2O_2. Używano wody utlenionej 1%-ej. Tylko w doświadczeniach z *vibr. chol.* dla ścisłości trzeba było H_2O_2 rozcieńczać do 0,3%. Po półgodzinnem oddziaływaniu wody utlenionej zawartość probówek wylewano na płytki z płynnym agarem. Nazajutrz lub na trzeci dzień badano, wobec jakiej ilości H_2O_2 płytki pozostały jałowe. Jednocześnie dla kontroli brano z tych samych zawiesin bakterje rozcieńczone w stosunku 1 : 1000, 1 : 100,000, 1 : 10,000,000 wylewano na 3 płytki z płynnym agarem i nazajutrz lub na trzeci dzień liczono ilość kolonij. Podaję tu wynik doświadczenia z *Staphyl. aureus*. Wzięto kilka probówek z H_2O_2, których zawartość różniła się tylko o 0,1 cm^3 wody utlenionej. Do każdej probówki dodano 1 cm^3 zawiesiny bakteryj. Wobec 5,3 cm^3 H_2O_2 płytka pozostała jałowa, wobec 5,2 cm^3 wyrosły pojedyńcze kolonje. Liczenie wykazało w 1 cm^3 zawiesiny 6,5 miljardów bakteryj. Okazuje się, że 8 mgr. wody utlenionej zabija miljard bakteryj. Tym sposobem zbadano i inne gatunki; dla *bact. coli* potrzeba 2,1 mgr. H_2O_2 na miljard bakteryj, *paratyph. B.* — 1,4 mgr., dla *typh.* — 0,85 mgr., dla *vibr. cholerae* 0,44 mgr. Zestawiając te dane o odporności wymienionych bakteryj z danemi o sile katalitycznej tych gatunków według pracy *Marji Rywosz* i mojej otrzymujemy tablicę następującą:

Gatunek bakteryj	Ilość tlenu, wydzielająca się z H_2O_2 po dodaniu 1 mgr. bakt.	Ilość H_2O_2, zabijająca 1 miljard bakt.
Staphyl. aureus .	2,0 cm^3	8 mgr.
Bact. coli . . .	0,6 cm^3	2,1 mgr.
Paratyphus B. . .	0,18 cm^3	1,4 mgr.
Typhus	0,1 cm^3	0,85 mgr.
Vibr. cholerae .	pojedyńcze pęcherzyki na 2—3 mgr.	0,3—0,4 mgr.

Jak widzimy, istnieje równoległość między siłą katalityczną a ilością wody utlenionej, działającą zabójczo na bakterje. Ta równoległość nie jest jednak zupełna. Tak np. *bact. coli* katalizuje 3 — 4 razy silniej, niż *paratyphus B.*, a do zabicia miljarda *bact. coli* potrzebna mniej, niż podwójna ilość H_2O_2. Może to być zależne od ciężaru właściwego tych drobnoustrojów. Dla określania siły katalitycznej ważono bakterje, dla określania zaś stopnia bakterjobójczości wody utlenionej liczono je. Aby się przekonać, że rozmaita odporność względem H_2O_2 zależna jest od obfitości katalazy, a nie ewentualnie od charakteru substancyj rozmaitych,

badałem *bact. coli* w warunkach tlenowych i beztlenowych. Jak w poprzedniej pracy [14]), tak i teraz przekonałem się, że beztlenowa hodowla, jako nie wytwarzająca katalazy, jest znacznie mniej odporna na H_2O_2, niż tlenowa.

Wystarcza 0,3 mg. H_2O_2 dla zabicia 1 miljarda beztlenowych *bact. coli.*, czyli drobnoustroje te są 8—10 razy słabsze niż tlenowe. Z prac *Millera* i naszej możemy wnioskować, że nie tlen, wytwarzający się przy katalizie zabija bakterje, lecz nierozszczepiona H_2O_2.

Chciałbym zwrócić uwagę lekarzy na stosunek *vibr. cholerae* do H_2O_2. Jak wykazaliśmy w swoim czasie, mętwiki słabo katalizują wodą utlenioną. Obecnie przekonałem się, że równolegle z tem odporność ich względem H_2O_2 jest bardzo słaba. Proponowałbym wyzyskać tę właściwość dla celów leczniczych. Możnaby przemywać kiszki chorych na cholerę, zamiast enterekliżmą *Cantanie'go*, 0,3% wodą utlenioną. H_2O_2 i w tem stężeniu jest według danych *Koberta* dla ustroju zupełnie obojętna, z drugiej zaś strony wystarcza do zabicia *vibr. chol.* Jeżeli przypomnimy, że woda utleniona działa nie tylko bakterjobójczo, lecz jak wykazują prace *Sieberowej* i *Loewenstejna* [15]), niszczy również i toksyny, to mamy jeszcze jeden powód do przypuszczenia, że lawatywy z wody utlenionej mogą okazać się pożyteczne. W każdym razie leczenie takie byłoby absolutnie nieszkodliwe, korzyść zaś może okazać się znaczna. Proponowałbym przemyć wpierw kiszki 100—150 cm^3 0,3% H_2O_2, następnie wlać 200—300 cm^3 H_2O_2 tego samego stężenia i pozostawić płyn na 20—30 minut (0,3% można otrzymać przez 10-krotne rozcieńczenie wody utlenionej zwykłej). Do rozcieńczonej wodą przegotowaną wody utlenionej należałoby dodać kwasu octowego do $^1/_{20}$ lub $^1/_{30}$ N., ponieważ w kwaśnym odczynie woda utleniona oddziaływa silniej i nie tak łatwo rozszczepia się na wodę i tlen, czyli dłużej utrzymuje się, jako H_2O_2, co działa właśnie zabójczo na bakterje i na toksyny. Przemywanie możnaby powtarzać.

PIŚMIENNICTWO.

1) R. Kobert. Ueber einige Enzyme wirbelloser Thiere. Pflugers Arch. 1903, 99.

2) Karl Spiro. Die Wirkung von H_2O_2 auf die Anaerobien. Münch. Medizin. Wochenschrift 1915, Nr. 15.

3) Ch. Chamberlain et Fernbach. Sur la desinfection des locaux. Annales de l'Institut Pasteur 1892.

4) A. Houswel. Experim. und Klinische Untersuchun. über die Verwendbarkeit des Wasserstoffsuperoxyds in der Chirurgie. Bruns Beiträge zur klinischen Chirurgie 1896.

5) E. Poulson. Lehrbuch der Pharmakologie. 5 Auflage 1920.

6) Fr. Croner. Ueber das baktericide Verhalten des H_2O_2 u. s. w Zeitschrift für Hygiene 1909, 63.

7) Küster. Untersuchungen über Bakterienvernichtung durch den Sauerstoff der Luft und durch Wasserstoffsuperoxyd. Zeitschr. für Hygiene 1901, 50.

8) M. Beck. Ueber die desinfizierende Eigenschaft der Peroxyde. Archiv für Hygiene 1901, 37.

9) A. Miller. Ist das unzersetzte H_2O_2 oder aus ihm abgespaltene Sauerstoff der Träger der Desinfektionswirkung. Zeit. für Hygiene 1921, 93.

10) D. Rywosch. Die Katalyse des H_2O_2 durch Erythrocyten. Centralbl. für Physiol. 1907, 21.

11) Jorns. Ueber Bakterienkatalase. Zeit. für Hygiene 1908, 67.

12) D. Rywosz und Marie Rywosch. Ueber Katalyse des H_2O_2 durch Bakterien. Centralbl. für Bakteriol. 1907, 44.

13) O. Bujwid. Differenzierung von Bakterien Kulturen mit H_2O_2. Centralblatt für Bakteriol. 1916, 17.

14) D. Rywosz. O katalizie wody utlenionej przez bakterje. Przegląd Epidemjologiczny 1921, I, 524.

15) A. Loewenstein. Ueber Katalase. Wiener. Klin. Wochenschrift. 1903, 18.

Aus dem bakteriologischen Institut der Universität in Warschau.
(Direktor Prof. R. Nitsch).

Zur Frage der bakteriziden Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd.

von Dr. RYWOSZ.

Verschiedene Bakterien besitzen in verschiedenem Grade die Fähigkeit, H_2O_2 zu spalten. Verf. untersuchte das Verhältnis zwischen der Empfindlichkeit verschiedener Bakterien und ihrem Spaltungsvermögen. Um eine Milliarde von Staphylococus aureus abzutöten, sind 8 mgr. H_2O_2 notwendig, bei B. Coli 2,1, bei B. Paratyphus B 1,4, bei Typhus 0,85, bei Cholera 0,3 bis 0,4 mgr. In derselben Reihenfolge fällt auch die katalytische Kraft der Bakterien: bei Staphylococcen am stärksten, bei Cholera am schwächsten. Die Versuche sprechen dafür, dass bei Bakterien, ähnlich wie dies Verf. früher für Erythrocyten nachgewiesen hat, der Katalase eine Schutzwirkung zukommt. Die grosse Empfindlichkeit der Cholerabakterien gegen Katalase lässt die Anwendung von Wasserstoffsuperoxyd in 0,3% Lösung bei Cholerakranken als Klysma angezeigt erscheinen.

Z pracowni do badań nad tyfusem plamistym
(Dyrektor Prof. Dr. R. Weigl).

Doświadczenia nad zdolnością aglutynacyjną surowic ogrzewanych.

Podał

Dr. LUDWIK FLECK.

I. Zdolność aglutynacyjna surowic zmienia się pod wpływem ogrzewania bardzo rozmaicie. Niektóre surowice aglutynacyjne zachowują ją nawet po zagotowaniu, w rozcieńczeniu 1 : 10, nad wolnym płomieniem mimo zmleczenia, inne natomiast tracą ją już przy 70°C.

Zależy to nietylko od rodzaju antygenu i zwierzęcia, ale od całego szeregu innych czynników. Zmiana, która się dokonywa w surowicy ogrzewanej, dotyczy, po za stratą miana aglutynacyjnego, także samego przebiegu aglutynacji. Okoliczności te czynią już z góry nieprawdopodobnem. aby zmiana ta polegała tylko na przemianie pewnej ilości aglutynin w t. zw. aglutynoidy (*Eisenberg i Volk, A. Wassermann*).

W literaturze serologicznej nie brak jest prac doświadczalnych nad tem zagadnieniem. Badania *Eisenberga i Volka, Joosa, Schellera, Picka. Rodelli, Widala i Secarda i in.* nie dotyczą jednak tej strony zjawiska, którą zająłem się w tej pracy, mianowicie zależności zmian surowicy od wartościowości jej i od rozcieńczenia, w którem ją ogrzewano. Ponadto poprzestawali ci autorzy na jednorazowem ogrzewaniu surowicy, nie uwzględniając kolejnych zmian podczas kilkakrotnego ogrzewania.

Badania niniejsze przeprowadzone były na 20 różnowartościowych surowicach królików, świnek i ludzi (*ty. abd.*, X_{19}, *Shiga—Kruse, ty. ex.*— człow.), które ogrzewałem, w rozcieńczeniach od 1 : 10 do 1 : 2560, w ciągu 1^h kolejno w temperaturze od 65°C do 80°C, w niektórych wypadkach do 100°C. Aglutynacyj zrobionych było razem ponad tysiąc, wszystkie makroskopowe w rurkach. Stężenie zawiesiny prątkowej było wszędzie jednakie.

II. Zdolność aglutynacyjna surowicy, a w szczególności surowicy ogrzewanej lub zmienianej w inny sposób nie j est dostatecznie scharakte-

ryzowana przez samo podanie największego rozcieńczenia, aglutynującego zawiesinę o stałem stężeniu zupełnie lub prawie zupełnie. Konieczne jest również podanie, jak surowica ta aglutynuje w dalszych rozcieńczeniach, aż do zupełnego zniknięcia ostatnich śladów aglutynacji, ponieważ z dwuch surowic, aglutynujących w zupełności w rozcieńczeniu 1 : 1000, jedna może aglutynować jeszcze bardzo wyraźnie przy 1 : 2000, a druga w tem rozcieńczeniu wcale nie aglutynuje. Z surowic tych pierwsza ma większą zdolność aglutynowania niż druga, jakkolwiek miano ich, według przyjętego sposobu oznaczania, jest równe.

Szczególnie surowice ogrzewane wykazują bardzo różnorodny spadek stopnia aglutynacji podczas rozcieńczania, a ponieważ część ich wykazuje przy mniejszych rozcieńczeniach zjawisko zahamowania aglutynacji, więc samo podanie miana aglutynacyjnego jest zupełnie niewystarczające.

Ale i w surowicach świeżych miano nie jest miarą zjawiska aglutynacji w tem znaczeniu, aby można powiedzieć, że surowica 1 : 10.000 ma miano 10 razy większe od surowicy 1 : 1000, podobnie jak nie można temperatury 1000°C uważać za 10 razy wyższą od 100°C. Niedopuszczalne jest również procentowe obliczanie strat miana, tak jak nie można uważać, że ciało, którego temperatura ze 100°C spadła do 90°C, ochłódło o 10%.

Miano jest bowiem rzeczywiście tylko „imieniem“, wieloznacznym wskaźnikiem, który zmienia się w sposób bardzo zawiły pod wpływem różnych, niewspółmiernych przyczyn. Zwłaszcza surowice ogrzewane mają czasem w kilku próbach różne miana, jak to podaje także *A. Wassermann* (*Paltauf* 1913), bo już samo rozcieńczanie może wywołać różne nieraz ustosunkowanie się działających czynników surowicy.

Dlatego prace ilościowe, jak klasyczna praca *Eisenberga i Volka* (1902) niemają dostatecznego oparcia i w każdym razie nie pozwalają wysnuwać tak dalekich wniosków, jak to uczynił *Sv. Arrhenius.*

Zdolność aglutynacyjną surowicy można scharakteryzować jedynie przez podanie całego obrazu aglutynacji [1]) np.:

Sur. I. (typ. surow. świeżej) 1 : 10 +, 1 : 20 +, 1 : 40 +, 1 : 80 +, 1 : 160 + — —, 1 : 320 —.

Sur. II. (typ. surow. ogrzew.) 1 : 10 +, 1 : 20 +, 1 : 40 +, 1 : 80 +, 1 : 160 + + —, 1 : 320 + —, 1 : 640 śl. 1 : 1280 —.

Sur. III. (typ. surow. ogrzew.) 1 : 10 + — —, 1 : 20 + —, 1 : 40 + + —, 1 : 80 +, 1,60 + —, 1 : 320 śl., 1 : 640 —.

---

[1]) Do oznaczenia stopnia aglutynacji używałem następującej skali:

+	zupełna aglutynacja,
+ śl	bardzo drobny ślad opalizacji z zawieszonych bakteryj, widoczny tylko w odpowiedniem świetle,
+ + —	większość bakteryj zaglutynowana,
+ —	połowa „ „
+ — —	mniejszość „ „
śl	ślady aglutynacji
—	zupełny brak aglutynacji.

Z surowic tych, których miano jest jednakie, każda bezsprzecznie ma inną zdolność aglutynacyjną. Porównać je najłatwiej przez wykreślenie krzywych aglutynacji, które można otrzymać, oznaczając na osi rzędnych stopień aglutynacji według podanej skali, a na osi odciętych każdorazowe rozcieńczenie. Krzywe, otrzymane tą drogą można porównywać i analizować, a przedewszystkiem wykazują one pewne typy powtarzające się.

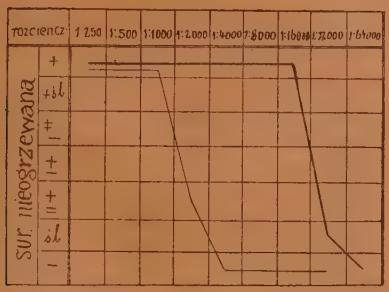
III. Surowice ogrzewane aglutynują inaczej, niż nieogrzewane. Naogół aglutynacja odbywa się wolniej, dochodzi szczytu dopiero na drugi dzień. Kłaczki są mniejsze i opadają wolno. Podobnie zmniejszona jest chwytność (*aviditas*) starych surowic [1]).

Surowice ogrzewane znacznie częściej aglutynują niezupełnie, niż surowice świeże, a ma to różne przyczyny.

Normalna krzywa aglutynacji (patrz tabl. I.) składa się z ramienia poziomego, położonego na wysokości +, i z ramienia zstępującego, nachylonego pod kątem większym od 45° a mniejszym od 90°, przechodzącego przez 2—3 rozcieńczenia.

TABLICA Nr. 1.

Typ surowicy nieogrzewanej.



Linja grubsza: Surowica królika Nr. 3 (X_{19}).
Linja cieńsza: Surowica ludzka Nr. 2404, odcz. Weila.

Krzywe algutynacji surowicy ogrzewanej składają się albo z dwóch ramion, krótkiego poziomego na wysokości + i dłuższego zstępującego, nachylonego pod kątem mniejszym od 45°, przechodzącego przez 4—8 rozcieńczeń; jest to typ pierwszy (pr. tabl. II.).

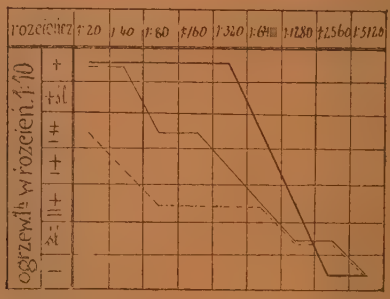
Innego rodzaju krzywa surowicy ogrzanej składa się z trzech ramion: zstępującego, przechodzącego przez 2—4 rozcieńczenia, poziomego na wysokości + lub niżej i zstępującego, jak w krzywej poprzedniego typu. Ramię wstępujące dowodzi obecności zjawiska zahamowania, które ustę-

[1]) Paltauf. 1913, str. 586. Pojęcia aviditas używa się w kilku różnych znaczeniach: 1) szybkości wiązania, 2) trwałości wiązania, 3) szybkości wypadania kłaczków, 4) zupełności aglutynacji. Tu tylko użycie 1) i 3).

puje w większych rozcieńczeniach w zupełności lub częściowo. Jest to typ drugi (IIa i IIb; pr. tabl. III.).

TABLICA Nr. 2.

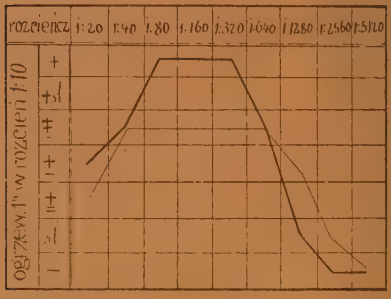
Typ surowicy ogrzewanej I.



Linja grubsza: Surowica królika Nr. 3 (X_{19}) ogrzewana przez 1h przy 70° C.
Linja cieńsza: „ „ „ „ „ „ „ „ 75° C.
Linja przerywana: „ „ „ „ „ „ „ „ 80° C.

TABLICA Nr. 3.

Typ surowicy ogrzewanej II.



Linja grubsza: Typ $II^{a)}$: Surowica królika Nr. 2 (ty. abd.) ogrzew. przy 70° C.
Linja cieńsza: Typ $II^{b)}$: „ „ „ (ty. abd. stara) ogrzew. przy 70° C.

Wreszcie trzeci typ krzywych (pr. tabl. IV.) aglutynacyjnych surowic ogrzanych składa się z dwuch ramion, jak typ pierwszy, z tą jednak różnicą, że ramię poziome nie leży na wysokości +, ale niżej. Mamy tu również zjawisko zahamowania, nie ustępujące jednak w sposób widoczny, mimo rozcieńczania surowicy.

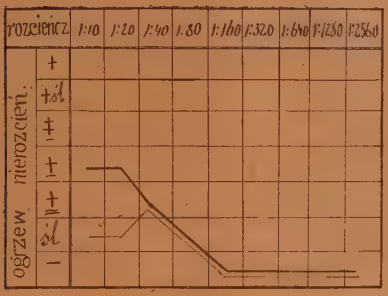
We wszystkich trzech typach krzywych zdarza się często przy końcu zstępującego ramienia krótkie ramię poziome, najczęściej na wysokości „śl" idące przez 2, najdalej przez 3 rozcieńczenia (pr. tabl. II.).

Surowice stare wykazują krzywe aglutynacyjne mniej lub więcej zbliżone do krzywych surowic ogrzewanych. Z krzywych tych wynika więc przedewszystkiem:

1) Ponieważ ramię zstępujące jest stale silniej nachylone i przeciąga się przez 4—8 rozcieńczeń, zamiast przez 2—3, jak w surowicy nie-

TABLICA Nr. 4.

Typ surowicy ogrzewanej III



Linja grubsza: Surowica królika Nr. 5 (X19) ogrzew. przez 85 min. przy 70° C.
Linja cieńsza: Ta sama surowica po 145 min.

ogrzewanej, więc zupełność aglutynacji cierpi w wyższym stopniu, niż zdolność aglutynacji wogóle (patrz tabl. II).

Ostatnie ślady aglutynacji występują nieraz prawie bez zmian, mimo 2, 4, a nawet 8-krotnego rozcieńczenia surowicy i dochodzą do tego samego rozcieńczenia, w jakiem ta sama surowica aglutynowała w śladach przed ogrzewaniem. Zjawisko to występuje najwybitniej przy wysokowartościowych surowicach.

2) Istnienie typu I-go dowodzi, że strata miana niezależna jest jedynie od powstawania aglutynoidów, gdyż w krzywych tego typu niema żadnego zahamowania, mimo nieraz dużej straty miana (patrz także tabl. V i VI). Typ ten dowodzi dalej, że strata na zupełności aglutynacji również nie zależy jedynie od powstawania aglutynoidów. Krzywe takie dotyczą głównie surowic małowartościowych.

IV. Utrata zdolności aglutynacyjnej surowicy po ogrzaniu jest stale tem mniejsza, im większe było rozcieńczenie, w którem surowicę ogrzewano. Po następnych ogrzewaniach tej samej surowicy straty są stosunkowo coraz mniejsze. Ogrzewanie ma więc pod tym względem ten sam wpływ, co rozcieńczanie.

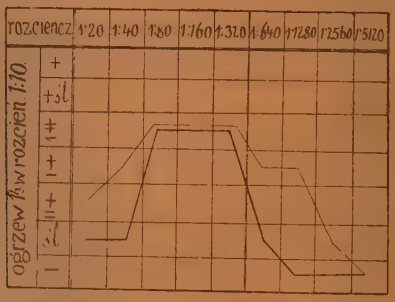
Surowica wysokowartościowa traci znacznie wybitniej, niż niskowartościowa i, po pewnym szeregu ogrzewań, miana ich mogą być prawie równe, nawet jeśli poprzednio jedno wynosiło n. p. 1 : 16000 +, a drugie 1 : 1600 +.

Surowica niskowartościowa zachowuje się więc wobec wysokowartościowej jak rozcieńczona.

Surowica, w której powstało w pewnej temperaturze zjawisko zahamowania, traci znacznie mniej na swej zdolności aglutynacyjnej, niż odpowiadałoby to stratom jej w temperaturze niższej. Czasami towarzyszy pojawianiu się zahamowania zysk miana. Zysk miana podczas ogrzewania obserwowałem wielokrotnie (pr. *Schelle*r.).

TABLICA Nr. 5.

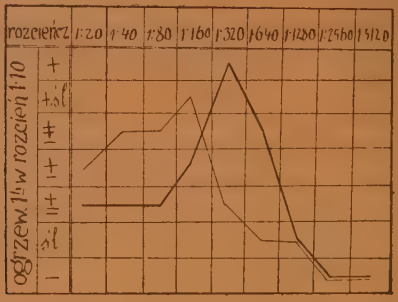
Zahamowanie zmniejsza się, równocześnie miano podnosi się.



Linja grubsza: Surowica królika ty. abd (stara) ogrzewana przy 75° C.
Linja cieńsza: Ta sama surowica, po ogrzewaniu przy 80° C.

TABLICA Nr. 6.

Zahamowanie zmniejsza się, równocześnie miano opada.



Linja grubsza: Surowica królika (ty. abd.) Nr. 4 ogrzewana przy 75° C.
Linja cieńsza: Ta sama surowica, ogrzewana przy 80° C.

Pojawienie się zahamowania działa więc również tak, jak rozcieńczenie surowicy.

Surowica, otrzymana przez uodpornienie ogrzewanemi bakterjami (40 — 50 min. w 65° C) jest mniej wrażliwa na ogrzewanie, niż surowica otrzymana żywemi prątkami. Ma ona ponadto szerszy zakres działania od tej drugiej, gdyż aglutynuje ogrzane bakterje prawie równie dobrze, jak nieogrzane. Do podobnych wyników doszedł *Joos*.

Strata zdolności aglutynacyjnej surowicy podczas ogrzewania jest więc mniejsza, jeśli: 1) ogrzewamy surowicę w większem rozcieńczeniu, 2) jeśli była już ogrzewana, 3) jeśli jest małowartościowa, 4) jeśli tworzy łatwo aglutynoid, 5) jeśli antygen był ogrzewany. *Schelle*r, twierdzi, że zachowanie się surowicy podczas ogrzewania zależy również od zjadliwości antygenu, o czem zresztą nie mogłem się przekonać.

V. Powstawanie zjawiska zahamowania aglutynacji nie jest przywiązane do pewnej stałej temperatury. W surowicy *Ty. abd.* powstaje ono w temperaturze 60° — 65° C. po $^1/_2$ h, jeśli ogrzewaniu poddano surowicę nierozcieńczoną, albo w temp. 70° C po 1 h, jeśli wysokowartościową surowicę przed ogrzaniem 10 razy rozcieńczyć, albo w temp. 80° C. po 1 h, jeśli taką samą surowicę 100 razy rozcieńczyć.

Im mniejsze jest rozcieńczenie surowicy, im wyższe jej miano, i im starszą jest surowica, tem obfitszy powstaje aglutynoid i w niższej temperaturze.

Nierozcieńczona surowica, wysokowartościowa (X_{19} — królik) dała aglutynoidy po 85 minutach ogrzewania w temp. 70° C; taka sama niskowartościowa dopiero po 145 minutach.

Surowica, wykazująca zjawisko zahamowania, może mimo to w większem rozcieńczeniu całkowicie aglutynować (pr. krzywe typu II-a).

Rozcieńczenie ogrzewanej surowicy, przy którem tworzą się aglutynoidy, nie jest identyczne z największem rozcieńczeniem, w którem zahamowanie jest jeszcze widoczne, lecz jest zawsze mniejsze. Np. surowica królicza Nr. 4 (ty. abd.), ogrzewana w rozcieńczeniu 1 : 10 w temp. 75° C., wykazuje zahamowanie aglutynacji aż do rozcieńczenia 1 : 320, a ta sama surowica, ogrzewana w rozcieńczeniu 1 : 100, nie hamuje aglutynacji ani w rozcieńcz. 1 : 100, ani 1 : 200.

Podczas dalszego ogrzewania surowicy, zawierającej ciało hamujące, znika ono i to tem prędzej, im później i im mniej obficie wystąpiło. Znikaniu temu towarzyszy czasem zysk miana: kilkakrotnie obserwowałem to przy surow. króliczej X_{19}, dwukrotnie przy starej surowicy króliczej *Ty. abd.* (patrz tabl V).

VI. Opisane zjawiska nie wyczerpują wszystkich zmian, dokonywujących się w surowicach ogrzewanych. Różne „indywidualne“ zmiany w niektórych surowicach nie zasługują na opisanie. Natomiast muszę zanotować, iż wielokrotnie skonstatowałem, że małowartościowe surowice, które w 70° C. straciły zupełnie zdolność aglutynacyjną, po dalszem ogrzewaniu do 80° C. zyskują ją napowrót, coprawda niecałkowicie (świnka, *Ty. abd.*).

VII. Najprostszem wytłumaczeniem obserwowanych zjawisk byłoby przyjęcie, że strata zdolności aglutynacyjnej jest proporcjonalna do stężenia jakiegoś czynnika, którego ilość decyduje o wartościowości surowicy, zmniejsza się podczas ogrzewania i przez rozcieńczanie, a także podczas powstawania ciała hamującego.

Czynnikiem tym mogłyby być hypotetyczne aglutyniny. W takim razie przyjęlibyśmy, że w ogrzewanej surowicy ulegają aglutyniny uszkodzeniu, proporcjonalnie do swego stężenia.

Uszkodzenie to jest tem szybsze, im wyższa jest temperatura, ale w zasadzie odbywa się i w zwykłych temperaturach pokojowych, a nawet w lodowni. Stąd pochodzi, że stare surowice zachowują się po latach, jak ogrzewane.

Uszkodzenie to polega: 1) Na zmianach we wszystkich lub w większości aglutynin, dzięki czemu zmienia się ich chwytność (aviditas). 2) Na dalej idących zmianach w pewnej części aglutynin, dzięki którym miano spada mimo, że zjawisko zahamowania nie występuje. 3) Na tworzeniu się z pewnej ilości aglutynin aglutynoidów (t. j. cząstek ciała hamującego) tem łatwiej, im większe jest stężenie aglutynin podczas ogrzewania. Aglutynoidy te ulegają jakimś dalszym zmianom i to tem prędzej, im mniej ich było.

Przynajmniej jedna z wyliczonych pod 1) 2) i 3) zmian aglutynin jest odwracalna, co tłomaczyłoby pojawianie się zysku miana (pr. tabl. V).

Zjawisko większej odporności surowic, otrzymanych przez uodpornienie ogrzanym antygenem, skłaniałoby do przyjęcia zdania *Stronga*, że w skład aglutyniny wchodzi pewna ilość mniejszych aglutynin częściowych (Partialagglutinine) o różnej ciepłotrwałości. Składu takiego dla *Ty. abd.* dowodził *Joos*.

Przyczyny różnicy między typami I-b i III, a typem II-a możnaby szukać w większem powinowactwie (powinowactwo w znaczeniu trwałości wiązania, w odróżnieniu od chwytności, oznaczającej szybkość wiązania i wypadania) aglutynoidów tych pierwszych typów. W takim razie należałoby przyjąć, że powinowactwo to jest różne, zależnie od warunków, bo surowica wytworzona tym samym antygenem może należeć do różnych typów, zależnie od wartościowości i wieku lub ogrzewania.

Wszystkie te regułki posiadają naturalnie tylko mnemotechniczne znaczenie, bo pojęcia aglutyniny i aglutynoidu, jako cząstek ciała aglutynującego i hamującego, są tylko symbolami, które, podobnie jak pojęcie powinowactwa, nie mogą już zgóry rozstrzygać na korzyść chemicznej teoryi aglutynacji.

Co do najważniejszej, bo zawsze występującej cechy surowic ogrzewanych, mianowicie zjawiska, że zupełność aglutynacji cierpi w wyższym stopniu, niż zdolność do aglutynacji niezupełnej, to ono właśnie wychodzi poza ramy teorji chemicznej.

Że zmniejszeniem bowiem stężenia czynnych aglutynin, musiałaby albo równomiernie opadać zupełność aglutynacji i zdolność do aglutynacji niezupełnej, albo też, w wypadkach powstawania ciała hamującego o większem powinowactwie, aglutynacja zupełna byłaby wogóle niemożliwa, a spadek stopnia aglutynacji dawałby krzywe zasadniczo różne od podanych.

Podane zaś typy moglibyśmy jedynie otrzymać, gdybyśmy przyjęli, że powinowactwo aglutynoidów, jak i aglutynin, bywa różne, nawet w tej samej surowicy i zmienia się przy rozcieńczaniu i ogrzewaniu.

Mojem zdaniem, przemawia to raczej za fizykalną niż chemiczną naturą zjawiska aglutynacji i hamowania.

LITERATURA.

1. Paltauf. Die Agglutination.—Handbuch d. Path. Mikroorg. Kolle.-Wassermann, 1913, II, 580.

2. Eisenberg u. Volk. Untersuchg. über d. Agglutination. Zeitschft. f. Hyg. u. Infectionskht. 1902, XL (1902).

3. Scheller. Experim. Beitrag. zur Theorie d. Aggl.—Zentrblt für Bakt. XXXVI, I, 427 i 717.

4. Joos. Untersuchg. über d. versch. Agglutinine des Ty-serums. Zentrblt. f. Bakter., XXXIII 1903, 785.

5. Volk. Techn. u. Meth. d. Aggl.—Handbuch. d. Techn. u. Meth. d. Immunitätsforschg. Kraus-Levaditi, 1909, II.

6. Weil. Ueber d. Einfl. der Temper. auf. d. Aggl.—Zentrbl. f. Bakt. XXXVI i XXXVII.

7. Castellani. Die Aggl. bei gemisch. Infection.—Zeitschft. für Hyg. u. Infectionskht. 1902, XL.

Du laboratoire des recherches sur le typhus exanthématique.
Prof. Dr. R. Weigl.

Recherches sur le pouvoir agglutinant des sérums chauffés.

Par le Dr. LUDWIG FLECK.

L'auteur a accompli environ 1000 agglutinations des sérums différamment dilués, chauffés jusqu'à la tem. de 65° — 80° C. En se basant sur ces expériences l'auteur a tracé des courbes répresentant le degré du pouvoir agglutinant du sérum chauffé en différentes dilutions. Les courbes réprésentent quelques types, qui reviennent souvent, d'on peut tirer les conclusions suivantes:

1) La disparition du titre ne dépend pas seulement de l'apparition du corps inhibitant.

2) La totalité de l'agglutination souffre par le chauffage davantage que la capacité a l'agglutination incomplète.

3) La destruction du pouvoir agglutinant par le chauffage est inversement proportionelle au degré de la dilution du sérum, à son titre primitif et à la facilitè avec laquelle se forme le corps inhibitant.

4) L'antigène chauffé donne des sérums moins sensibles à la température.

5) L'apparition du phenomène de l'inhibition de l'agglutination n'est pas liée a une température determinée, au contraire son apparition est plus rapide dans le sérum moins dilué, dans le sérum au titre plus élevé et plus agé.

On peut se servir comme d'un moyen mnémotechnique d'une regle a peu près juste, c. à d. que les aglutinines dans le sérum chauffé disparaissent proportionellement au degré de leur concentration.

Cholera azjatycka w wojsku na obszarze wojennym w roku 1920—1921.

P o d a ł

Dr. STANISŁAW SASKI.

Pierwszą pewną wiadomość o szerzeniu się cholery wśród ludności cywilnej w Rosji i na Ukrainie oraz w szeregach armji rosyjskiej, podczas kampanji wojennej w r. 1920, otrzymał Szef Sanitarny Naczelnego Dowództwa w dniu 21 września 1920 r. od Szefa Sanitarnego armji, operującej na Wołyniu. W kilka zaś dni później wojska nasze, zajmując Lidę, znalazły się już na terenie, objętym przez epidemję. Dnia 30 września otrzymano w Nacz. Dow. wiadomość o szerzeniu się cholery wśród ludności cywilnej m. Lidy oraz powiatu Lidzkiego. Prawie równocześnie wpłynęło zgłoszenie pojedyńczych przypadków cholery wśród mieszkańców Grodna oraz kilku wsi okolicznych, jako też wśród jeńców bolszewickich, znajdujących się na tym terenie. Rozpoznania postawione były na zasadzie objawów klinicznych, gdyż wobec braku pracowni na miejscu przeprowadzenie badań bakterjologicznych było podówczas niemożliwe. Już w parę dni po otrzymaniu wiadomości o przypadkach cholery na obszarze wojennym mianowicie w pierwszych dniach października, stwierdzono pierwsze przypadki tej choroby w szpitalach wojskowych warszawskich (na Grochowie i przy ul. Czerniakowskiej) wśród żołnierzy i jeńców, przybyłych z obszaru wojennego.

Na teren, toczących się w roku 1920, walk cholera azjatycka zawleczona została bezsprzecznie przez oddziały armji rosyjskiej, wśród których grasowała z większem lub mniejszem natężeniem, o czem świadczyły zarówno zeznania jeńców lekarzy, jak w znaczniejszym jeszcze stopniu obecność chorych na cholerę żołnierzy, pozostawionych w naszem ręku przez cofającą się armję rosyjską oraz wielka liczba nosicieli mętwików cholery wśród jeńców. Zarażeniu uległy głównie, jeżeli nie wyłącznie, części północne terenu operacyjnego, mianowicie powiaty Grodzieński, Wołkowyski i Lidzki. W pow. Grodzieńskim główne ognisko znajdowało się we wsi Wierciliszkach, oddalonych o 7 klm. od Grodna, w której urządzony był przez wojska rosyjskie szpital prowizoryczny dla żołnierzy, chorych na cholerę. Wobec braku zarządzeń ochronnych, ze szpitala tego cholera łatwo mogła się rozszerzyć na okoliczną ludność cywilną. W powiatach Wołkowyskim i Lidzkim zanotowane były przypadki cholery wśród ludności

cywilnej m. Wołkowyska, Mostów, Lidy oraz kilkunastu wsi w pobliżu położonych. Według relacji lekarzy oddziałów, operujących na północ i północny wschód od Lidy, w miejscowościach tych cholery wśród ludności cywilnej nie stwierdzono.

W armji, zajmującej Małopolskę Wschodnią, część Wołynia i Podola, przypadków cholery nie zgłoszono. Na obszarze etapowym tej armji, mianowicie w Pyszkowcach pod Buczaczem, było kilkanaście przypadków cholery wśród ludności cywilnej, które jednak zachorzeń w wojsku nie spowodowały.

W armji, rozłożonej na Polesiu, w oddziałach frontowych również przypadków cholery nie spostrzegano, w etapie natomiast, mianowicie w Brześciu n./B., zdarzały się przypadki cholery, o których mowa będzie niżej.

W armji, zajmującej Grodzieńszczyznę, zanotowano wśród żołnierzy tylko 2 przypadki cholery. Pierwszy dotyczył kanoniera K. M., który zachorował w Grodnie w dniu 8 października, drugi dotyczył szeregowca N. z oddziału rozlokowanego w Sokółce, który jako chory nie na cholerę przybył do Białegostoku w dniu 29 października i przeszedłszy przez stację zborną, umieszczony został w szpitalu wojskowym. Objawy cholery wystąpiły u niego 2 listopada. Ponieważ w oddziale, z którego przybył N., przypadków cholery zarówno przedtem, jak potem nie spostrzegano, należy przypuścić, iż zaraził się on poza oddziałem w drodze z Sokółki do Białegostoku, lub, co pewniejsza, w Białymstoku na Stacji Zbornej albo już w szpitalu. Dokładniejsze dochodzenie epidemjologiczne w przypadku tym przeprowadzone nie było.

Największa liczba przypadków cholery zanotowana była w oddziałach armji, operującej w powiecie Lidzkim, a zatem w okolicy najbardziej przez epidemję nawiedzonej. Pierwszy przypadek cholery w tej armji stwierdzono wkrótce po zajęciu przez nią rejonów zakażonych, mianowicie w końcu września. Następne przypadki, ogółem w liczbie 42, przypadają na 1-szą dekadę października. Po dniu 10/X nowych przypadków nie zgłoszono.

Z powyższego wynika, iż cholera azjatycka w oddziałach armji naszej charakteru epidemji nie przybrała, nie bacząc na złe warunki sanitarne, wśród których formacje zmuszone były rozwijać swą akcję. W przeciągu miesięcy września, października i listopada w armjach, w których wogóle zdarzyły się zachorzenia na cholerę, zanotowano 45 przypadków, co w stosunku do liczebności armji stanowi liczbę znikomą. Podkreślić należy przytem wczesne zlikwidowanie epidemji na froncie, gdyż jak zaznaczono wyżej, po 10 października przypadków cholery w formacjach frontowych już nie notowano.

Znacznie dłużej utrzymywały się ogniska zarazy w niektórych punktach obszaru etapowego, mianowicie w Brześciu n. Bugiem i w Białymstoku Przebieg epidemji w Brześciu n. B. opisał *L. Szyfman*, ograniczam się przeto do podania na tem miejscu pewnych tylko szczegółów. Na istnienie ogniska cholery w Brześciu n. Bugiem naprowadziło badanie etjologji przypadków, stwierdzonych w pierwszych dniach października w warszawskich szpitalach wojskowych na Grochowie i przy ul. Czerniakowskiej. Okazało się mianowicie, iż z pośród ogólnej liczby 20 tu

bakterjologicznie stwierdzonych przypadków cholery, 11 dotyczyło chorych, którzy przybyli pociągiem sanitarnym z Brześcia n. B., gdzie dłuższy lub krótszy czas przebywali na Stacji Zbornej dla chorych i rannych. Wszyscy ci chorzy odeszli ze swych oddziałów do szpitali jako gorączkujący bez objawów, wzbudzających podejrzenie o cholerę. U większości z nich stwierdzono następowo w szpitalach dur powrotny. Nasuwało się wobec tego podejrzenie, iż na Stacji Zbornej w Brześciu n B. istniało ognisko zarazy. Dochodzenie epidemjologiczne, poparte badaniami bakterjologicznemi, przeprowadzone niezwłocznie w Brześciu, potwierdziło podejrzenie powyższe oraz wykryło ponadto drugie ognisko cholery w Punkcie Wysyłkowym dla jeńców. Bakterjologicznie stwierdzono cholerę na Stacji Zbornej, po raz pierwszy w dn. 13 października. Wobec tego, że pierwsze przypadki cholery na Stacji Zbornej, jako też w P. W. J. zostały przeoczone, stało się niemożliwem stwierdzenie, gdzie mianowicie powstało pierwotne ognisko w Brześciu n. B. i skąd choroba została zawleczona. Najbardziej prawdopodobnem wydaje się przypuszczenie, iż została ona przyniesiona na P. W. J. i Stację Zborną w końcu września przez pierwsze partje jeńców wojennych, wśród których byli chorzy na cholerę albo nosiciele mętwików. Przeoczenie pierwszych przypadków tłumaczy się do pewnego stopnia tem, iż wielokrotnie cholera u jeńców przebiegała pod postacią kliniczną czerwonki i przeto wypróżnienia tych chorych, jako nie podejrzanych o cholerę, nie były poddawane badaniom na obecność mętwików cholery.

Dzięki energicznym zarządzeniom ognisko cholery na Stacji Zbornej zostało zlikwidowane jeszcze w październiku. W Punkcie wysyłkowym dla jeńców, mimo kontumacji, zarządzonej w 2-ej połowie października oraz izolowania nosicieli, epidemja trwała jeszcze przeszło miesiąc. Ostatni przypadek zdarzył się 9 grudnia. Dokonane w grudniu i styczniu 1921 r. masowe badanie bakterjologiczne kału wszystkich jeńców Punktu Wysyłkowego dało wynik ujemny.

Poza wyżej wymienionemi ogniskami cholery w Brześciu n./B., istniało tam jeszcze ognisko trzecie, które jednak przez dłuższy czas uchodziło uwadze miejscowych władz sanitarnych. Ognisko to znajdowało się w wojskowym szpitalu epidemicznym. Pomimo wygaśnięcia ogniska epidemji na Stacji Zbornej oraz w P. W. J. oraz mimo braku przypadków cholery w oddziałach załogi miejscowej, jako też śród ludności cywilnej, do Oddziału dla chorych na cholerę przy szpitalu tym napływały sporadycznie przypadki bakterjologicznie stwierdzanej cholery przez cały grudzień 1920 r. oraz jeszcze w początkach stycznia 1921 roku. W tym samym czasie, t. j. do końca grudnia, stwierdzane były w szpitalach w Warszawie pojedyńcze przypadki cholery, względnie wykrywani byli nosiciele z pośród chorych, ewakuowanych ze szpitala epidemicznego w Brześciu n. B. Dochodzenie szczegółowe, przeprowadzone w początku stycznia 1921 r. wykazało, iż źródłem zakażenia był oddział I-szy tego szpitala, którego główny kontyngent chorych stanowili jeńcy. Niezwłoczna kontumacja szpitala, zbadanie na nosicielstwo wszystkich chorych, jako też personelu szpitala, dezynfekcja ubikacyj oraz ścisłe przestrzeganie zasad odkażania

materjału zakażonego, doprowadziły w krótkim czasie do stłumienia ogniska zarazy. Ostatni przypadek cholery w szpitalu, będący równocześnie ostatnim przypadkiem w Brześciu n. B., stwierdzony został dnia 23 stycznia 1921 r. W czasie od 10 do 23 stycznia, na ogólną liczbę 480 chorych, znajdujących się w szpitalu, wykryto nosicieli 16 i ujawniono 6 chorych na cholerę zaś z pośród 71 osób personelu wykryto 2 nosicieli (posługaczkę i jeńca-sanitarjusza) i jedną chorą na cholerę posługaczkę.

W czasie trwania epidemji cholery w Brześciu n./B. wykonano w polowej pracowni bakterjologicznej ogółem 4081 badań na cholerę, przyczem otrzymano wynik dodatni w 121 przypadkach, a mianowicie: żołnierzy chorych na cholerę było 8-miu (zmarło 4), nosicieli — 7; jeńców chorych—72 (zmarło 33), nosicieli — 28; pracowników cywilnych chorych—3 (zmarło 0), nosicieli — 3. Ogółem więc, od października 1920 r. do 23/I, 1921 r., w Brześciu n. B. stwierdzono bakterjologicznie cholerę w 83 przypadkach (zmarło 37 cz. 44,5%) oraz ujawniono 38 nosicieli. Liczby powyższe nie obejmują przypadków cholery przeoczonych na początku epidemji. Przypadki te dotyczyły głównie, jeżeli nie wyłącznie, jeńców dostarczonych na Stację Zborną i do szpitali z Punktu Wysyłkowego dla jeńców oraz z kompanij robotniczych. Podkreślić należy, iż w oddziałach załogi Brześcia n. B. nie zaszedł ani jeden przypadek cholery. Źródłem zakażania się żołnierzy była Stacja Zborna oraz szpital. Badanie bakterjologiczne wody ze studzien w Brześciu dało pod względem obecności mętwików cholery wyniki ujemne.

Drugim, obok Brześcia n. B., punktem obszaru etapowego, w którym stwierdzone zostały przypadki cholery wśród żołnierzy, względnie śród jeńców wojennych, był Białystok. Przypadki te jednak, z wyjątkiem, być może jednego, były pochodzenia zamiejscowego. W garnizonie Białegostoku przypadków cholery nie stwierdzono. Pierwszy przypadek cholery w Białymstoku stwierdzono klinicznie 23 października. Dotyczył on jeńca z kompanji robotniczej, transportowanej z Brześcia n. B. do Baranowicz, Chory zmarł 24/X, a badanie bakterjologiczne, wykonane w pracowni szpitala Ujazdowskiego w Warszawie, rozpoznanie potwierdziło. Dalsze przypadki pochodziły z dwuch transportów jeńców litewskich, wysłanych celem repatrjacji z obozu w Wadowicach do Punktu Wymiany w Grodnie. W pierwszym transporcie, przybyłym do Białegostoku dnia 26/X, stwierdzono bakterjologicznie cholerę u jednego jeńca, zmarłego tegoż dnia w szpitalu. Z drugiego transportu w dniu 28/X odosobniono sześciu podejrzanych o cholerę jeńców, z których dwuch zmarło (28/X i 3/XI). W obydwu przypadkach badanie bakterjologiczne dało wynik dodatni. Dzięki natychmiastowemu izolowaniu transportów i poddaniu ich kwarantannie, przypadki te nie spowodowały dalszych zachorzeń. Stwierdzenie w Białymstoku cholery wśród jeńców litwinów przyczyniło się bezpośrednio do wykrycia nieujawnionej jeszcze podówczas epidemji w Obozie jeńców w Wadowicach. Ostatni wreszcie przypadek cholery, stwierdzony w szpitalu wojskowym w Białymstoku, dotyczył wyżej wymienionego szeregowca N., przybyłego z Sokółki. Jak zaznaczyłem wyżej, pochodzenie przypadku tego pozostało niewyjaśnione.

Zarówno Brześć n. B., jak Białystok, jako punkty, leżące na głównych drogach komunikacyjnych między obszarem wojennym a krajem, miały za zadanie filtrowanie ogółu chorych i rannych przed ewakuacją ich do kraju w celu nieprzepuszczania osobników, mogących być przenosicielami mętwików cholery. Jak wynika z powyższego, Brześć zadania tego należycie nie spełnił. Co się tyczy Białegostoku, to nie posiadam pewnych wiadomości o przypadkach cholery w kraju, zawleczonych przez Białystok, przynajmniej w okresie, w którym miejscowość ta należała jeszcze do obszaru wojennego. Oczywista, nie jest rzeczą wyłączoną, iż wśród chorych i rannych, ewakuowanych do kraju przez Białystok, znajdowali się nosiciele mętwików, gdyż odnośne badania bakterjologiczne dokonywane były tam wyłącznie w przypadkach, podejrzanych o cholerę. Co się tyczy dwu przypadków nosicieli, przybyłych z Białegostoku i ujawnionych w szpitalu przy ul. Czerniakowskiej w Warszawie, o których wspomina w swej pracy *Sterling-Okuniewski*, to należy zauważyć, iż nie przedstawiają się one dość jasno. Nie wiadomo mianowicie, jak długi czas przebywali chorzy ci w szpitalu, przed wykryciem u nich wibrjonów. W związku z tem nie można z całą pewnością wyłączyć, iż nie nabyli oni zarazków już w szpitalu, jak stało się to w 14 innych przypadkach, o których wspomina *Sterling-Okuniewski*.

Zestawiając przypadki cholery, stwierdzone od września 1920 r. do 23 stycznia 1921 r. w oddziałach, czynnych na froncie oraz na obszarze etapowym, otrzymujemy liczby następujące:

	chorzy	nosiciele
żołnierze	53	7
jeńcy	80	28
osoby cywilne, zatrudnione w Zakładach wojskowych	3	3
razem	136	38

Według zestawienia, podanego przez *Mutermilcha*, na obszarze kraju stwierdzono cholerę ogółem u 42 żołnierzy. Łącznie więc z przypadkami, stwierdzonemi na obszarze wojennym ogólna liczba przypadków cholery w armji naszej wynosi 95. Śmiertelność na cholerę na obszarze wojennym wynosiła, jak wynika z zestawienia, dotyczącego epidemji w Brześciu n. B., około 44,5%. Absolutna liczba przypadków śmierci w wojsku na obszarze wojennym w ciągu całej epidemji nie dała się, niestety, na podstawie posiadanego materjału ustalić.

Co się tyczy wpływu szczepień ochronnych na chorobność i śmiertelność na cholerę, to wobec braku ścisłej rejestracji szczepień w wojsku w okresie epidemji 1920/21 roku, zebranie odnośnych danych na szerszą skalę było niemożliwe. Z zestawienia *L. Szyfmana*, opartego wyłącznie na materjale epidemji w Brześciu n. B., wynikałoby, iż, gdy wśród nieszczepionych śmiertelność wynosiła 50% przypadków, pośród szczepionych jednokrotnie wynosiła ona 47,4%, pośród szczepionych zaś dwukrotnie — 32,2%.

Na obszarze wojennym, podobnie jak w kraju, cholera przenosiła się wyłącznie drogą kontaktu; w żadnym przypadku nie dało się stwierdzić szerzenia się jej przez wodę lub produkty spożywcze, co tembardziej zasługuje na uwagę, iż stan sanitarny osiedli na kresach pozostawiał bardzo wiele do życzenia. Temu sposobowi przenoszenia się przypisać należy w głównej mierze nieznaczną liczbę ofiar epidemji wśród wojska.

Co się tyczy sposobów zwalczania epidemji, zastosowanych w wojsku na obszarze wojennym, to wymienię tutaj tylko ważniejsze zarządzenia ogólne, zaznaczając, iż w poszególnych przypadkach przestrzegane były zwykłe przepisy sanitarno-higjeniczne, jak oto: odosobnianie chorych i nosicieli, odkażanie, wynajdywanie źródła zakażenia i t. d. Nakazane zostało przeprowadzenie szczepienia tetrawakcyną wszystkich żołnierzy i jeńców. Oddziały, przechodzące z odcinków zakażonych do kraju lub na odcinki frontu względnie etapu, wolne od epidemji, winne były przejść na miejscu 5-cio dniową kwarantannę. To samo dotyczyło oddziałów jeńców. W połowie listopada wstrzymano całkowicie transportowanie jeńców z obszaru wojennego do kraju oraz przesuwanie kompanij robotniczych z jednej miejscowości do drugiej. W celu ograniczenia ruchu osobowego między obszarem wojennym a krajem wstrzymano (do 26/X 1920) urlopy oficerów i szeregowych, podróże zaś służbowe polecono ograniczyć do najniezbędniejszych, przyczem osoby wyjeżdżające podlegały oględzinom lekarskim w swoim oddziale. Ustanowiono stacje szczepienia ochronnego dla przejeżdżających do kraju na dworcach kolejowych w Białymstoku, Czeremsze, Brześciu n. B. i w Kowlu. Chorzy i ranni przed ewakuacją do kraju winni byli przebyć przynajmniej 5-cio dniową obserwację w szpitalach, znajdujących się na wschód od linji Grajewo — Białystok — Brześć n. B.

PIŚMIENNICTWO.

1. Mutermilch S. Epidemja cholery w Armji Polskiej i wśród jeńców bolszewickich w 1920—1921 r. Przegląd Epidem. 1922. II. 92.

2. Mutermilch S. L'épidémie du cholera dans l'armée polonaise en 1920 — 1921. Annales Past. 1922, 36, Nr. 4.

3. Sterling — Okuniewski S. Przyczynek do epidemjologji cholery. Przegl. Epidem. 1920/1921. I. 305.

4. Szyfman L. Epidemjologja cholery w Brześciu nad Bugiem. Przegląd Epidem. 1921. I. 646.

R E S U M É.

Le choléra asiatique dans l'Armée Polonaise dans la zône des Armées et des Etapes en 1920 — 1921.

Par le dr. St. SASKI.

L'épidémie de choléra a été importé sur le terrain des hostilités par les armées russes. Les premiers cas de cette maladie, dans les détachements polonais aux Armées, ont été constatés à la fin du mois de septembre 1920. Néanmoins la maladie n'avait pas un caractére épidémique et des cas sporadiques, seulement, se sont répétés dans le courant de la première décade d'octobre, avec un chiffre total de 45 cas.

Dans la zône des Etapes, à Bialystok et Brest s/Bug notamment, le choléra a duré plus longtemps, choisissant principalement ses victimes parmi les prisonniers de guerre. A Brest s/Bug trois foyers s'étaient formés simultanément: au point de concentration des malades et blessés, au poste de triage pour prisonniers de guerre, et à l'hôpital militaire des étapes.

Ce dernier foyer, ayant existé le plus longtemps, fut définitivement éteint en janvier 1921.

Le nombre total de cas de choléra constatés dans les détachements aux Armées et dans la zône des Etapes a été de:

soldats malades	53;	soldats porteurs de germe .	7.
prisonniers de guerre malades	80;	prisonniers porteurs de germe	28.
travailleurs civils dans les établissements militaires malades	3;	travailleurs civils dans les établissements militaires porteurs de germe	3,

O metodzie Harrisa szczepień przeciw wodowstrętowi.

Podał

Dr. BOG. FEIERABEND (Praga Czeska).

Modyfikacje sposobu, podanego przez *Pasteura* dla szczepień przeciw wodowstrętowi, dążą przedewszystkiem ku temu, aby doprowadzić do znaczniejszego stopnia odporności, aniżeli przy stosowaniu metody pierwotnej, oraz aby uzyskać odporność rychlej. Cel ten starano się osiągnąć już to drogą stosowania szczepionki o większej zjadliwości np. (*Ferran, Proescher*), już to zmieniając zjadliwość zarazka przez dodanie chemikaljów (*Fermi*), lub przez djalizę (*Cummings*), albo wreszcie przez równoczesne stosowanie surowicy czy też przez wstrzykiwanie szczepionki uczulonej (*Marie*). Po części należy tu i metoda *Högyesa*, która stosuje zarazek świeży, lecz w postaci zawiesiny znacznie rozcieńczonej. Z drugiej strony znowu spotykamy usiłowania, dążące do uproszczenia przyrządzania szczepionki. Pierwotny sposób *Pasteura* wymaga bowiem codziennego szczepienia królików i codziennego wyjmowania rdzenia, co kosztuje dużo roboty, czasu i materjału. Pod tym względem zastosowanie przez *Calmette'a* gliceryny dla konserwacji serji rdzeni z różnych dni oznacza już wielki postęp, upraszcza bowiem znacznie przygotowanie szczepionki oraz umożliwia wygodne przesyłanie jej pocztą i stosowanie na miejscu.

W artykule niniejszym zamierzamy zwrócić uwagę na niezwykle zajmujący sposób przyrządzania szczepionki przeciw wodowstrętowi, podany przez *Dr. Harrisa* w St Louis — sposób, który bez wątpienia zasługuje na wypróbowanie i u nas przez fachowców.

Technika przyrządzania (stosowana w pracowniach firmy Mulford C-o, Glenolden Pa), jest — pokrótce ją przedstawiając — następująca. Mózg, wraz ze rdzeniem królika, którego zabito w okresie rozwiniętego porażenia, pozbawia się opony miękiej z naczyniami i rozciera się go w moździerzu o podwójnych ścianach, pomiędzy które równocześnie zostaje wpuszczony z bomby zgęszczony bezwodnik kwasu węglowego. Jeżeli rozcieranie rozpoczynamy dopiero w chwili, kiedy moździerz na całej powierzchni pokryty zostanie szronem, cała masa mózgordzeniowa rozpada się w ciągu 2 minut na delikatny proszek. Proszek ten przenosimy do miski ochłodzo-

ej w podobny sposób, jak to czyniliśmy z moździerzem, następnie zaś, raz z miską, szybko wkładamy do eksykatora, zawierającego zgęszczony was siarkowy. Z eksykatora wypompowujemy, również możliwie szybko w ciągu kilku minut), powietrze, schodząc do ciśnienia poniżej 2 mm. słupa tęci. Tak ewakuowany eksykator zanurzamy w mieszaninie lodu i chlorku apniowego (—18° C.). W ciągu 36—48 godzin następuje zupełne odwonienie proszku. Proszek, wysuszony w ten sposób, rozdziela się i zatapia tutkach szklanych, przyczem znowu należy zważać, aby działanie wilgoci graniczyć do minimum. Chcąc następnie użyć sproszkowanej szczepionki o wstrzykiwań, przyrządzamy zawiesinę proszku w rozczynie fizjolicznym.

Jeżeli materjał roztarto dokładnie, jeśli zamrożono i wysuszono go ciepłocie, nie przekraczającej 18°C, proszek wykazuje prawie taką amą zjadliwość, jak i materjał świeży. Fakt ten pozostaje w pozornej przeczności z spostrzeżeniami, poczynionemi przy stosowaniu pierwotnej etody *Pasteura*, gdzie ręka w rękę z utratą wody (podczas suszenia nad gniem) idzie zmniejszanie się zjadliwości. *Harris* uważa tę sprzeczność a pozorną i tłumaczy ją w następujący sposób. W ciągu powolnego dwodniania, jakie odbywa się w metodzie *Pasteura*, podnosi się w komórce rdzeniowej stężenie roztworu soli i innych substancyj rozpuszczalych, aż wreszcie dosięga ono stopnia, przy którym działa niszcząco na arazek wścieklizny, wprost drogą chemiczną. Jeżeli natomiast rdzeń, upełnie jeszcze zmarznięty, poddajemy wysuszeniu — i to szybkiemu w niskiej temperaturze, pozbawiamy wtedy kolejno jedną komórkę, względnie jedną drobinę za drugą, wody niejako przez bezpośrednie ulatnianie ię lodu, wskutek czego nie powstają warunki, w których mogłyby się ytworzyć zgęszczone roztwory soli albo innych substancyj rozpuszczalych. Jak długo przechowujemy proszek w bezwzględnem zabezpieczeiu przed działaniem wilgoci, jadowitość jego zmniejsza się bardzo nienacznie. Skoro jednak sproszkowaną szczepionkę, która jest nader ygroskopijna, wystawimy na działanie powietrza, pochłania ona chciwie odę, rozpływa się, zakaźność jej zaś opada szybko. Stopień zakaźności proszkowanej szczepionki zależy więc od stopnia zimna, działającego ciągu rozcierania rdzenia oraz w ciągu suszenia proszku, warunkiem aś utrzymania pierwotnego stopnia zakaźności jest bezwzględna ochrona zczepionki przed wilgocią.

Preparat gotowy poddaje się następnie miareczkowaniu. *Harris* osługuje się przy tem miarą, zaprowadzoną w roku 1907 przez *Harveya Mc. Kendricka*, którzy „najmniejszą dawką zakaźną“ (M. I. D.) nazywają ajmniejszą ilość proszku, która, wstrzyknięta pod oponę twardą królika, owoduje u niego porażenie 7-go dnia; wynosi ona zwykle około 0,004 mg.

Jeżeli proszek, zatopiony w rurkach, trzymamy w ciepłocie 0°C, akaźność jego nie doznaje przez okres kilku miesięcy prawie żadnego bniżenia. Natomiast w rurkach, trzymanych w zwykłych lodowniach w ciepłocie + 8° do + 12° C), obniża się zakaźność szczepionki w tempie, óre można wyrazić krzywą paraboliczną. M. I. D. wynosi bowiem po 1 dniach 0,008 mg., po 50 dniach 0,01 mg., 100 dniach 0.02 mg., po 200

dniach 0,05 mg, po 500 dniach 0,1 mg. (dla porównania warto zaznaczyć że zakaźność proszku 200-dniowego dorównuje zakaźności rdzenia, 2-dniowego, spreparowanego według metody *Pasteura*). *Harris* sam przechowuje sproszkowaną szczepionkę w ciepłocie + 10° C i osłabia w ten sposób celowo jej zakaźność w przekonaniu, popartem przez doświadczenie, że szczepionka nie traci przy tem na własnościach imunizacyjnych. Zdanie to nie zgadza się z doświadczeniem, poczynionem przy stosowaniu pierwotnej metody *Pasteura*. Tutaj bowiem — według przyjętego zapatrywania — zdolność imunizacyjna szczepionki jest zależna od stopnia zakaźności. Jednakowoż i w tym kierunku wytłumaczenie możemy znaleść w różnicach w sposobie suszenia. Tak samo bowiem, jak u szczepionek bakteryjnych, zdolność imunizacyjna pozostaje w odwrotnym stosunku do stopnia dezintegracyi komórki bakteryjnej, i w tym przypadku można sobie wyobrazić, że zarazek wścieklizny, pomimo częściowej utraty zakaźności, zachowuje własności ochronne, skoro przez nagłe zamrożenie i wysuszenie w próżni zapobieżono daleko idącemu jego rozpadowi.

Układając swój schemat szczepienia, dąży *Harris* do możliwie ścisłego dawkowania. Wstrzykuje on w lekkich przypadkach około 5.000 M. I. D. w ciągu 6 dni, w przypadkach poważniejszych 10.000 M. I. D. w ciągu dni 8, w przypadkach niebezpiecznych ugryzień 30.000 jednostek w ciągu dni 15-tu; w jednym przypadku stosował nawet 70.000 jednostek. (Dla porównania zauważymy, że przy stosowaniu metody *Pasteura* szczepi się około 2.000 M. I. D., zaś przy sposobie *Högyesa* około 2.000 — 4.000 jednostek.) Szczepienie rozpoczyna *Harris* od 250 M. I. D. pierwszego dnia i, nie powtarzając dawki, względnie nie wracając do dawek poprzednich, niższych, dochodzi do 3.000 — 5.000 jednostek. Na początku daje zwykle proszek 500-dniowy i, podnosząc dawkę, przechodzi równocześnie do szczepionki świeższej, aż wreszcie do proszku zupełnie świeżego.

Według listownych danych autora, wyniki statystyczne, osiągnięte opisaną metodą do końca roku 1920, są następujące. Ogółem leczono 3 500 osób, pomiędzy niemi 1.300 ugryzionych przez psy, u których wściekliznę stwierdzono dowodnie. Z tej ogólnej liczby szczepionych, zmarły na wściekliznę trzy osoby — jednak po tak krótkim okresie wylęgania, że śmiertelność, obrachowana według *Pasteura*, dorównuje zeru. Nie doniesiono o żadnym przypadku porażenia *Landryego*.

Sposób *Harrisa* stosuje się w Stanach Zjednoczonych, w państwie Indyana oraz w miastach St. Louis i New Orleans. Oprócz tego zajmują się wyrobem szczepionki według *Harrisa* dwie duże firmy prywatne, rozsyłając je po całym kraju obok oryginalnej szczepionki *Pasteura*.

Już na podstawie podanego tu streszczenia metody zdaje się być uzasadniony sąd, że uodpornianie zapomocą sproszkowanej szczepionki, sporządzonej według *Harrisa*, łączy zalety sposobu *Pasteura* i metody *Högyesa*, t. j. stosowanie materjału osłabionego, pozbawionego własności zakaźnych dla człowieka (wedle metody pierwszej) z prostotą ilościowego rozcieńczania (sposobem drugiego). Jeżeli zaś dalej, w myśl przyjętych ogólnych zapatrywań, stopień osiągniętej odporności zależy od ilości wstrzykniętych jednostek zakaźnych, metoda *Harrisa* daje większe szanse od obydwuch

poprzednich, stosuje bowiem 2 — 10 razy więcej M. I. D. od tamtych. Wreszcie skraca ona znacznie okres szczepienia.

Największą jednak zaletą opisanej metody jest jej strona ekonomiczna. Oszczędza ona bowiem ogromnie nakład czasu, pracy i kosztów. Zużywając mózg wraz z rdzeniem, otrzymuje się tą metodą z jednego królika szczepionkę dla 20 — 25 kompletnych seryj. Wystarczy zaszczepienie kilku królików jednocześnie, aby sporządzić następnie, również za jednym razem, ilość szczepionki wystarczającą na przeciąg 12 miesięcy dla pokaźnej liczby osób i będącą stale pod ręką w gotowym stanie. Oto zalety, które potrafi najlepiej ocenić ten, kto stosuje oryginalną metodę *Pasteura*.

Zastanawiając się nad sposobem *Harrisa*, nie można nie zwrócić uwagi na pewne wątpliwości. I tak, przy oznaczaniu M. I. D. nowej szczepionki napotyka się na trudności, mogące spowodować błędy, idące nawet do 100%, — wobec tego trudno następnie oceniać i stopień obniżenia zakaźności, jaki wykazuje szczepionka, trzymana w + 10° C.; nie jest niemożliwem dalej, że nawet w samej zawiesinie przed wstrzyknięciem zmienia się zjadliwość szczepionki. Trudno jednak przypuścić, aby wspomniane nieścisłości były znaczniejsze od nieścisłości sposobów dotąd używanych, przyczem są one zrównoważone przez zalety, których innym metodom brak. Według mojego przekonania drogą, wskazaną przez *Harrisa*, można dojść do bardzo dobrych wyników.

PIŚMIENNICTWO.

1) Harris. The properties of dessicated rabies virus. Journ. Inf. Dis. 1912, X.

2) Harris. Further studies on the effects of dessication of the virus of rabies, Journ. Inf. Dis. 1913, XIII.

3) Harris. Comparative results in antirabic treatement. Journ. Am. Med. Ass. 1916, LXVIII.

Z Państwowego Zakładu Badania Surowic.
(Dyrektor Dr. L. Hirszfeld).

Zmiany anatomo-patologiczne u zwierząt, zatrutych maksymalnemi dawkami neo-arsenobenzolu.

Podał

J. SUPNIEWSKI.
Asystent Państwowego Zakładu Badania Surowic.

Własności chemoterapeutyczne pierwiastków grupy azotu są bardzo do siebie zbliżone. Pod względem własności fizycznych, chemicznych i biologicznych bardzo są podobne pierwiastki: fosfór, arsen, antymon, bizmut. Pod względem toksykologicznym wszystkie te pierwiastki są truciznami miąższowemi, wywołującemi ciężkie zwyrodnienia białkowe i lipoidowe komórek zwierzęcych. Wrażliwość gatunkowa komórek na te trucizny jest różna: np. na związki trójwartościowe tych pierwiastków większa jest wrażliwość komórek pierwotniaków, niż komórek zwierząt wyższych. Na tej podstawie oparta została chemoterapja grupy azotu.

Własności zabójcze trójtlenku arsenu dla pierwotniaków znane były już dość dawno. W leczeniu zimnicy środek ten zastosowali po raz pierwszy *Laveran* i *Mesnil*. *Blumenthal* pierwszy wprowadził do terapji pochodną benzolową arsenu „atoksyl" (p—$NH_2C_6H_4AsO$ OH ONa). *Thomas* zbadał działanie jego na wiciowce chorobotwórcze, a *Koch* na świdrowce (trypanosomy). Związek ten zawiera w składzie swym arsen w postaci pięciowartościowej. Postać ta, jak to wykazał *Ehrlich*, jest bardziej toksyczna dla tkanek zwierząt wyższych (*neuritis optica*), niż postać trójwartościowa. *Ehrlich* wytworzył preparat, w którym arsen występuje w postaci trójwartościowej, związany z węglem pierścienia benzolowego obok silnie redukującej grupy orto-amidophenolu, przeszkadzającej w utlenianiu arsenu w organizmie zwierzęcym na postać pięciowartościową. Związek ten nazwano salwarsanem (HCl NH_2 OH C_6H_3 As=As C_6H_3 OH NH_2 HCl)

Wadą salwarsanu była mała jego rozpuszczalność w płynach obojętnych. *Ehrlich* zaradził temu przez dodanie do salwarsanu formolsulfoksylatu sodu (NaO) (OH) S. HCOH); wytwarza się przytem grupa sulfoksy-

metylenowa, wiążąca się z grupą amidową salwarsanu, która nadaje rozpuszczalność preparatowi. Preparat ten nazwano neosalwarsanem ($NH_2OH\ C_6H_3\ As{=}As\ C_6H_3\ OHNH\ CH_2\ OSONa$). Neosalwarsan, dzięki silnym własnościom etjotropowym w całej serji chorób ludzkich i zwierzęcych, wywołanych przez pierwotniaki, oraz przez niektóre bakterje, wywalczył sobie jedno z pierwszych miejsc, jako środek leczniczy.

Chemoterapja związków antymonowych zapoczątkowana została przez szkołę *Ehrlicha*. Badania w tej dziedzinie nie są jeszcze zakończone. W ostatnich czasach *Brahmahari* stwierdził silne działanie etjotropowe pochodnej benzolowej antymonu „ureasubaminy" ($p{-}NH_2C_6H_4SbO\ (OH)_2\ NH_2CONH_2$) w leishmaniozie (Kala-azar). Badania nad bizmutem doprowadziły do wprowadzenia przez *Sazerac'a* i *Levaditi'ego* „luesolu" ($NaO_2\ COBiO\ HC{-}CHOBiO\ CO_2K$) do leczenia kiły.

Szerokie zastosowanie arsenobenzolu w terapji ludzkiej i zwierzęcej wywołało wzrost jego produkcji oraz zjawienie się całej serji falsyfikatów tego drogiego produktu.

Aby uchronić ludność od uszkodzeń na życiu lub mieniu przez działanie złych preparatów, rządy państw (Polska, Stany Zjednoczone, Anglja, Włochy i t. d.) zaprowadziły przymusową kontrolę tych związków.

Cel kontroli jest potrójny.

Po pierwsze, chodzi o stwierdzenie, czy dany preparat jest arsenobenzolem. Wobec badań nad zwierzętami wystarcza badanie chemiczne ilości arsenu, która winna wynosić koło 19%.

Po drugie, stwierdzić trzeba, czy preparat nie jest zbyt toksyczny. W tym celu nastrzykuje się dożylnie zwierzęta dawkami maksymalnemi (według dawnej instrukcji angielskiej 0,2 pro kg. dla królika, 0,18 dla szczura, 0,25 dla myszy).

Następnie w celu stwierdzenia własności etjotropowych preparatu zastrzykuje się dawki minimalne zwierzętom, zarażonym świdrowcami i kontroluje się krew tych zwierząt (dawka minimalna dla króla 0,01 na kg. wedł. *Hata*). Pewnym miernikiem może być obserwacja kliniczna chorych, zastrzykniętych preparatami. Preparat, który przeszedł te próby, winien być uważany za dobry.

Państwowa kontrola arsenobenzolów jest niezbędna, jak to wykazały smutne doświadczenia lat ostatnich (wzrost śmiertelności wskutek arsenobenzolów złych w Niemczech). Zły arsenobenzol wywołuje w organizmie ludzkim dość ciężkie zmiany patologiczne, które mogą doprowadzić w szybkiem tempie do śmierci. Porażeniu ulegają przedewszystkiem: ośrodkowy system nerwowy, wątroba, nerki, przewód pokarmowy, obok mniej niebezpiecznych porażeń skóry, ślinianek i t. d.

Klinicznie obserwowano często po wlewaniach arsenobenzolu objawy porażeń ośrodkowego systemu nerwowego. W rdzeniu i w mózgu znajdowano (*Finger*, *Rille*) zmiany naczyniowe, a mianowicie nacieki komórkowe około drobnych naczyń, rozluźnienie śródbłonka naczyniowego, następczo wybroczyny krwawe do substancji nerwowej i, co za tem idzie, wtórne zmiany tejże. Zmiany te prowadzą do porażeń ośrodków nerwowych, szlaków i następczo do porażeń nerwów obwodowych, w sferze zaś

psychicznej do zespołu objawów *Korsakowa*. W naczyniach większych obserwowano często zakrzepy (*Vena magna Galeni* przez *Schmurla*, *Bielchowskiego*, *Wechselmanna*). Obserwowano również ociek opon mózgowych, który prowadzić może do napadów padaczki (*Buschke*, *Wechselmann*).

Zmiany wątrobowe opisywane są najczęściej. Arsenobenzol, a właściwie jego składnik arsen, wywołuje, podobnie jak fosfór, zwyrodnienie ćme komórek wątrobowych, oraz stłuszczenia i degeneracje lipoidowe tychże. Proces zwyrodnienia prowadzi często do żółtego zaniku wątroby, albo rzadziej do *cirrosis atrophica*. Obok tego widziano nacieki komórek plazmatycznych wzdłuż systemu żyły wrotnej. Klinicznie obserwować można często żółtaczkę, która wskazuje na porażenie wątroby, nawet przez preparaty, wytrzymujące przepisowe próby toksyczności.

Przewód pokarmowy reaguje na działanie toksyczne arsenobenzolu biegunką. Badania anatomiczne wykrywały przekrwienia jelit, ew. wybroczyny krwawe, które prowadzić mogą do owrzodzenia ścian jelit. Zmiany nerkowe spostrzega się u ludzi stosunkowo rzadko (anurja, białkomocz). Pod względem anatomicznym opisywane są zwyrodnienia ćme kanalików krętych. Sporadycznie zauważano zwyrodnienia ćme i lipoidowe mięśnia sercowego oraz zmiany w *glandula parotis*. Skóra reaguje bardzo często na toksyczne działanie preparatu rozmaitego rodzaju wysypkami i rumieniami.

W Rzeczpospolitej Polskiej obowiązuje państwowa kontrola arsenobenzolu. Każdy preparat, czy to wyprodukowany w kraju, czy sprowadzony z zagranicy, podlega badaniu chemicznemu, biologicznemu i klinicznemu. Badania biologiczne prowadzone są w Państwowym Zakładzie Badania Surowic. Podczas badań arsenobenzolów, tak krajowych, jak i zagranicznych, zauważono całą serję zmian anatomo-patologicznych, wywoływanych w zwierzętach doświadczalnych przez preparaty zbyt toksyczne. Występowanie tych zmian może być użyte do celów określania toksyczności preparatu. Doświadczenia wykonywa się w następujący sposób.

Królikom, wagi około 1700 gr., wstrzykuje się 10%-wy roztwór preparatu w wodzie świeżej destylowanej i steryliżowanej w ciągu 5 minut w *vena auricularis*, w stosunku 0,2 gr. na kilogram wagi. Zwierzęta zastrzyknięte podlegają ścisłej obserwacji (ważeniu) w przeciągu 10 dni. Gdy zwierzęta przeżyją 7 dni, preparat uważany jest za przepisowo nietoksyczny. Podobne badania prowadzi się na myszach i szczurach, którym zastrzykuje się 5%-wy roztwór w stosunku 0,25 gr. ew. 0,18 gr. na kilogram w żyłę ogonową.

Podajemy tu nieco danych symptomatologicznych i anatomo-patologicznych, zebranych w badaniach nad toksycznością preparatów, głównie na królach. Po zastrzyku preparatu, zwierzęta zazwyczaj silnie krwawią w miejscu nakłucia, wskutek zmiejszonej krzepliwości krwi pod wpływem arsenobenzolu (pr. *Helmanowa* 1921). W parę godzin po zastrzyku występuje mniej lub więcej wyraźna biegunka, wskutek czego w ciągu pierwszych dwuch dni waga zwierzęcia spada. Dalszy los zwierzęcia zależny jest od jakości preparatu. Preparaty bardzo toksyczne zabijają zwierzęta w ciągu 12—24 godzin z objawami enterytu. Pod względem anatomo-patologicznym

stwierdzić można silne nastrzyknięcie jelit, niekiedy obrzęk odcinków jelitowych, oraz wybroczyny krwawe podśluzówkowe i podsurowicze. W okresie tym wyraźnych zmian w nabłonku jelitowym skonstatować nie można. Czasami zmiany takie jednak występują. Na miejscu krwawienia tworzy się naciek komórek plazmatycznych i limfocytów mniej lub wyraźniej widoczny, nabłonek jelitowy ulega złuszczeniu, jednem słowem wytwarza się mniej lub więcej wyraźne, powierzchowne owrzodzenie kiszkowe.

Zwierzęta, zastrzyknięte preparatami mniej toksycznemi, żyją dłużej. Waga ich zachowuje się rozmaicie; naogół spada w dość silnem tempie. Niekiedy, po pewnym spadku, waga podnosi się na krótki czas przed śmiercią zwierzęcia, co tłumaczy się zatrzymaniem wody w organizmie, stanowiącem wynik schorzeń nerkowych.

Podczas sekcji rzucają się w oczy nerki białe, duże, o powierzchni zlekka granulowanej, szorstkiej. Niekiedy powierzchnia posiada pola, leżące naprzemian, białe obok normalnie zabarwionych. Otoczka zewnętrzna nerek tych odchodzi bardzo łatwo. Na przekroju widać wyraźne rozgraniczenie w nerce na białą twardą substancję korową i zwykle przekrwiony rdzeń. Zmiany mikroskopowe zależne są od okresu, w ciągu którego zwierzę żyło. U zwierząt, zastrzykniętych salwarsanem złym i zabitych drugiego dnia, można zauważyć miejscami zwyrodnienie ćme kanalików krętych. Substancja plazmatyczna komórek nabłonka kanalików krętych mętnieje, jądra przestają się barwić i miejscami ulegają karjolizie. U zwierząt, padłych na czwarty dzień, obok zmian wymienionych, występuje odkładanie się węglanu i fosforanu wapnia w odcinkach kanalików patologicznie zmienionych. Często można widzieć krwotoki z kłębków *Malpighiego* do torebek *Baumana*, miejscami bezpośrednie krwotoki do miąższu, ew. do kanalików nerkowych.

U zwierząt, padłych na 7-my i 8-my dzień, kanaliki kręte substancji korowej ulegają prawie zupełnemu zwapnieniu. Miejscami można zauważyć pod złogami wapniowemi regenerację kanalików nabłonkowych, miejscami zaś przerost tkanki podpierającej kory Krwotoki kłębkowe są częstsze, podobnie jak i krwawienia miąższowe. Kanaliki proste substancji rdzennej wypełnione są zwykle wałeczkami szklistemi, niekiedy występuje łuszczenie się całych nabłonków tychże kanalików i tworzenie wałeczków nabłonkowych. Niekiedy kanaliki proste wypełnione są krwinkami i tworzą się wałeczki krwiste. Na mrożonych skrawkach takich nerek można wykazać, w początkowych okresach, degenerację lipoidową kanalików krętych. Substancja lipoidowa, wydzielająca się w postaci małych kropelek w miąższu komórek, wykazuje z sudanem reakcję tłuszczów, a miejscami z błękitem nilowym reakcje estrów cholesterynowych. W złogach wapna wykrywamy również obecność lipoidów. W okresach późniejszych zmiany lipoidowe występują w miejszych kanalikach prostych, oraz w pętlach *Henlego*.

Nerki zwierząt, padłych po 10—14 dniach, zawierają zupełne zwapnienie substancji kanalików krętych korowych, silne krwotoki kłębkowe, oraz niekiedy przerost tkanki łącznej podpierającej.

Zwierzęta, zastrzyknięte preparatami niezbyt toksycznemi i zabite po 10 dniach, posiadają w nerkach, pierwotnie zmienionych, pewne *restitutio ad integrum*. Zwapnienia ulegają wchłanianiu, miejscami widać silną rege-

neracyę nabłonków kanalików krętych, oraz łuszczenie się nabłonków kanalików prostych. Zwierzęta, zastrzyknięte nawet dobremi preparatami, nie wywołującemi po upływie 6—10 dni zmian nerkowych, mogą jednak wykazywać je przy zastrzyku dawek większych. Np. zwierzęta, zastrzyknięte preparatami niemieckiemi w dawce 0,4 pro kilo, posiadały po zabiciu już drugiego dnia analogiczne zmiany nerkowe. Zwierzęta, zastrzyknięte arsenianem sodu w dawce 0.008 pro kg. i padłe na drugi dzień z objawami uduszenia arszenikowego, wykazały przy sekcji początkowy obraz anatomopatologiczny opisanych zwyrodnień nerkowych. Należy przeto sądzić, że zmiany nerkowe przy użyciu arsenobenzoli wywołuje przedewszystkiem arsen i to prawdopodobnie niezwiązany swoiście (postać jonizująca się).

Podobne zmiany nerkowe znajdowano u szczurów, padłych wskutek toksycznego arsenobenzolu, jednakowoż nie zjawiały się tu tak charakterystyczne dla króli zwapnienia, oraz wyraźne krwotoki kłębkowe.

U zwierząt, padłych z obrazem zapalenia nerek, symptomatologicznie występowały drgawki kloniczne, przypominające drgawki podczas uremji ludzkiej. W jamie ciała tych zwierząt znajdowano zwykle dość wyraźny ascyt; pęcherz słabo wypełniony, mocz zawiera białko, wałeczki, krwinki. W nadnerczach sporadycznie można było wykazać przekrwienie. Kiszki zwykle wzdęte (atonja). W ściankach kiszki ślepej i okrężnicy wybroczyny krwawe. W jednym wypadku wystąpiła zgorzel odbytnicy.

Zmiany w wątrobie są mniej częste, niż nerkowe. Najczęściej spotykamy mniej lub więcej wyraźne stłuszczenie komórek wątrobowych, rzadko słabo zaznaczone zwyrodnienie ćme. Wzdłuż naczyń i kanalików żółciowych spostrzega się niekiedy nacieki komórkowe. Często można obserwować przekrwienie wątroby. W paru przypadkach nastąpił wyraźny przerost tkanki łącznej podpierającej.

Króliki z wątrobą, zmienioną patologicznie wskutek *coccidiozy* lub nacieku tłuszczowego, normalnego dla ciąży, są bardziej wrażliwe na działanie toksyczne arsenobenzoli. Króliki takie padają często od preparatów dobrych, lecz nigdy nie spostrzegano zmian nerkowych. Tłomaczyć to możnaby w ten sposób, że wątroba zmieniona nie może odtruwać tak energicznie organizmu, jak normalna, wskutek czego zwierzę podlega zatruciu ogólnemu i śmierci. Tłómaczyłoby to również śmiertelność samic królików, będących w ciąży. Parę samic ciężarnych padło po zastrzyku salwarsanu, zupełnie dobrego, w dniach 5—7-ym. Pod względem anatomopatologicznym znajdowano nacieki tłuszczowe wątroby, fizjologiczny przerost serca i nerek, oraz fizjologiczny naciek tłuszczowy w kanalikach prostych nerek. U żadnej z tych samic nie nastąpiło poronienie.

W płucach można często spotkać miejsca silnie przekrwione. Badania mikroskopowe wykazują przekrwienie naczyń w częściach zmienionych makroskopowo. Pęcherzyki płucne wypełnione są krwinkami, nieznaczną ilością nabłonkowych komórek alweolarnych oraz neutrofilami i płynem surowiczym. Podobne zmiany znajdujemy w mniejszych oskrzelikach. Serce wykazuje w rozkurczu zwykle jakby rozszerzenie komory lewej, co możnaby tłumaczyć zmianami nerkowemi. W systemie

nerwowym ośrodkowym nie udało się wykazać wyraźnych zmian, ani drogą mikroskopową, ani makroskopową.

Podkreślić tu należy, że część zwierząt pada po zastrzyku mniej więcej 10-go do 31-go dnia, bez jakichkolwiek zmian patolologicznych, tłumaczących ich śmierć.

PIŚMIENNICTWO.

1) Brahmahari. The Indian Journal of Medical Research. 1922, 492.
2) H. Dale—C. White. The Lancet. 1922, 779.
3) Dtto. Ueber die Pathogenese der Salwarsantodesfalle. Urban-Schwarzenberg. 1913.
4) Fournier—Guenot. Annales de l'Institut Pasteur. 1922, XXXVI. 14.
5) P. Fildes—J. Parnell. Medical Research Committée 1919, 41.
6) Ehrlich-Hata. Die experimentelle Therapie der Spirillosen J. Springer. 1910.
7) Kolle. Deutsch. Medizin. Wochenschrift. 1921, 43, 44.
8) A. Marie—F. Fourcade. Annales de l'Institut Pasteur. 1922, XXXVI. 34.
9) Sazerac-Levaditi. Annales de l'Institut Pasteur. 1922, XXXVI. 1.
10) Schindler. Der Salwarsantod. S. Kager. Berlin. 1914.
11) Uhlenhut. Chemotherapie der Spirillosen. Med. Klin. 1911.
12) „ Experimentelle Grundlagen der Chemoterapie der Salwarsan. Urban-Schwarzenberg. 1911.
13) Wechselmann. Behandlung der Syphilis durch Salwarsan. N. Coblenz. 1911.

De l'Institut des Recherches Serologiques d'État.
(Directeur Dr. L. Hirszfeld).

Lésions anatomo-pathologiques des animaux empoisonnés avec les doses maximales d'arsenobensol.

Par. J. SUPNIEWSKI.

On execute dans l'Institut des Recherches Sérologiques le contrôle des produits d'arsenobensol employés en Pologne. L'auteur nous expose quelques donnés anatomo-pathologiques observés pendant ces recherches. Le contrôle en Pologne est basé sur l'ancienne instruction anglaise et executé sur les lapins, les souris et les rats.

1. Les produits d'arsenobensol trés toxiques tuent les lapins dans 12—24 heures avec des symptômes d'enterite. On trouve des changement sur la muqueuse et ecchymoses qui peuvent provoquer des ulcerations superficielles.

2. Les produits moins toxiques tuent les lapins dans quelques jours, avec des symptômes de néphrite. Les lésions rénales se trouvent dans les tubes contournés. Ces tubes présentent des dégénérescences albumineuses et lipoidales, ensuite desquelles apparaissent des calcifications. On peut observer souvent des hemorragies glomérulaires et interstitielles et des dégénérescences lipoidales des tubes droits et des desquamations de leurs epitheliums. Les reins atteints regenèrent leur epithelium. Nous observons aussi l'accroissance du tissu interstitiel. On a trouvé chez les rats des changements semblables mais sans calcification.

3. Les produits bien preparés ne causent pas ces lesions, mais injectés en double dose provoquent les mêmes lesions.

4. L'arsenate de soude injectée en dose dix fois plus petite cause des lésions semblables.

5. On a observé des dégénérescences lipoidales des cellules du foie et des infiltrations cellulaires le long de la veine porte.

Les lapins ayant le foie modifié pathologiquement perissent même après l'injection d'arsenobensol bien preparé.

6, On a trouvé dans les poumons des hemorragies limitées, des desquamations et des exsudats séreux dans les alvéoles pulmonaires.

Les recherches ultérieures nous montrent que les signes de la dégénérescences rénales peuvent servir de base du contrôle pour élimination des produits trop toxiqes.

L'auteur suppose que les dégenerescences rénales sont causées par arsène ionisé.

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Warszawie.
(Dyrektor Dr. L. Rajchman).

Oznaczanie stopnia zakwaszania cukrów przez bakterje zapomocą mierzenia ilości jonów wodorowych.

Podał

Dr. STANISŁAW SIERAKOWSKI.

Zastępca Dyrektora Zakładu, Kierownik Działu Szczepionek.

Badanie zachowania się różnych gatunków bakteryj wobec cukrów stanowi obecnie jedną z metod, najbardziej używanych w bakterjologji. Zapomocą tej metody różnicujemy cały szereg gatunków bakteryj. Niekiedy jest ona prawie jedynym sprawdzianem, dotyczącym różnic pomiędzy poszczególnemi gatunkami bakteryj, np. w odróżnianiu bakteryj czerwonkowych typu *Flexner, Y, Strong.*

Do tej pory większość badaczy zadowalniała się stwierdzeniem, że dany gatunek bakteryj zakwasza cukry, nie uwzględniano jednak stopnia tego zakwaszenia. Obecnie wiemy, że nie wszystkie gatunki bakteryj zakwaszają cukry jednakowo. Jedne gatunki bakteryj zakwaszają dane podłoże z cukrami mniej, inne więcej, a następnie jeden i ten sam gatunek bakteryj może zakwaszać poszczególne gatunki cukrów niejednakowo. Miarą stopnia zakwaszenia jest ilość $H^{\cdot}$, jakie znajdujemy w środowisku, zakwaszonem przez bakterje. (Ilość jonów wodorowych przyjęto oznaczać symbolem Ph; jest to logarytm liczby $H^{\cdot}$ ze znakiem ujemnym. Roztwory obojętne mają Ph równe 7, kwaśne Ph mniejsze od 7, zasadowe większe od 7, pr. *Sierakowski* [1]).

Stopień zakwaszenia pożywki zależy: 1) od gatunku bakteryj, 2) od gatunku cukru, 3) od ilości cukru, 4) od ilości t. zw. ciał buforowych w pożywce. Jeżeli ilość cukru w pożywce jest zbyt mała, to wytworzone z nich kwasy nie mogą zakwasić pożywki, tembardziej jeżeli w tej pożywce jest dużo „ciał buforowych", które wiążą wytwarzające się z cukrów kwasy i wskutek tego stężenie $H^{\cdot}$ w pożywce zmienia się bardzo nieznacznie. Ilość cukru, większa od 0,2%, w zwykłych naszych pożywkach powoduje, pod wpływem odpowiednich bakteryj (*Laurens, F. Forster*), zakwaszenie zupełne.

Laurens i *Forster* [2]) wykazali, że *Streptococcus hemoliticus* zakwasza

glukozę do Ph 4,8
maltozę „ „ 5,1
mannozę „ „ 5,2
laktozę „ „ 5,4.

Sheer [3]) podaje, że bakterja okrężnicy (*Bac. coli*) zakwasza cukier mleczny do Ph 4,5, gronowy do 4,7.

Są bakterje, które zakwaszają znacznie silniej. *Sheer* [4]) pisze, że *Bac. bifidus* z kału oseska zakwasza cukry do Ph 3,7.

Mc Intosh, Warwick James, Lacrus Barlow [5]) opisują bakterje, powodujące próchnicę zębów, które zakwaszają cukry do Ph 3,4—2,2.

W pracy tej zbadano, jak zakwasza cukry cały szereg bakteryj. Badania były wykonywane w ten sposób, że do 1%-ej wody peptonowej dodawaliśmy 1% różnych gatunków cukrów chemicznie czystych. Ph określano w 24 godz. hodowli metodą kolorymetryczną. Wyniki tych badań zestawione są na załączonej tablicy, str. 359.

Widzimy z tej tablicy, że bakterje z grupy *coli* zakwaszają cukry w granicach 4,9—5,3. Znacznie słabiej zakwaszają je wibrjony cholery. Wibrjony rzekomo-choleryczne zakwaszają cukry silniej niż cholera, ale słabiej wogóle, niż bakterje grupy *coli*. Z badanych bakteryj najsłabiej zakwaszają cukry prątki dyfterytyczne: dekstrozę do Ph 6,3.

Wobec tego, że poszczególne gatunki bakteryj zakwaszają cukry w różnym stopniu, nauka zyskuje jeszcze jedną cechę, różniącą między sobą te gatunki. Obecnie nie wystarcza oznaczenie, że bakterje zakwaszają dany rodzaj cukru, lecz bardzo ważnem jest zbadanie, do jakiego Ph zakwaszenie dochodzi. Do tej pory, przy oznaczaniu stopnia zakwaszenia pożywek cukrowych przez bakterje, posługiwano się jako wskaźnikiem czerwienią obojętną lub lakmusem. Wybór czerwieni obojętnej w tym wypadku jest mało uzasadniony, gdyż wskaźnik ten zmienia barwę czerwoną na żółtą w granicach od Ph 6,6 — 8,0, t. zn., że przy Ph 6,6 otrzymujemy już maksimum natężenia barwy: wszystko więc, co ma Ph mniejsze od 6,6, posiada takie same zabarwienie. Zapomocą więc tego wskaźnika nie można zupełnie określić stopnia zakwaszenia poszczególnych gatunków bakteryj. Co więcej, mogliśmy stwierdzić, że niektóre gatunki bakteryj zakwaszają pożywki przefermentowane przez drożdże, a więc pozbawione cukrów, w pewnych warunkach do Ph 6,6, czyli do punktu, w którym czerwień obojętna daje zabarwienie prawie zupełnie czerwone. A zatem, używanie tego wskaźnika prowadzić może do mylnych wniosków. Bardziej uzasadnionem jest używanie jako wskaźnika lakmusu, który posiada nieco szerszą skalę zmiany barwy w sferze kwaśnej, mianowicie od Ph 7,0 do 6,4. Ale i ten wskaźnik nie pozwala na oznaczenie stopnia zakwaszenia pożywki przez poszczególne gatunki bakteryj wskutek tego, że bakterje zakwaszają silniej niż wskaźnik ten może wykazać, po za tem zmiana barw nie jest dość ostra. Wogóle lakmus niechętnie jest używany do oznaczania stężenia jonów wodorowych metodą kolorymetryczną.

Wobec tych trudności zwróciliśmy się do innych wskaźników. Ponieważ przy zakwaszaniu cukrów przez bakterje musimy liczyć się ze zmianą

	Laktoza	Dekstroza	Sacharoza	Mannit	Maltoza	Lewuloza	Rafinoza	Arabinoza	Inulina	Dulcyt	Kontrola
Coli	5,1	4,9	4,9	5,1	5,1	4,9	6,3	5,3	8,1	7,7	7,3
Tyfus	7,9	4,9	—	4.9	4,9	4,9	8,2	7,7	8,3	7,9	7,1
Para-Tyfus A. . .	7,9	5,1	8,2	5,1	5,1	5,1	8.2	4,9	8,3	7,9	7,1
Para-Tyfus B. . .	8,2	4,9	8,4	5,1	5,1	5,1	8,4	4,9	8,3	6,6	7,3
Para-Tyfus C. . .	8,2	4,9	8,2	5,1	5,1	4,9	7 8	5,1	8,2	5,3	7,3
Shiga	7,7	5,1	7,9	7,7	7,7	5,3	7,9	7,2	7,7	7,9	7,3
Flexner	7,9	4,9	8,0	5,1	5,2	5,1	7,9	5,4	7,9	7,9	7,3
Cholera	7,7	5,6	5,7	6,8	6,3	5,5	7,9	7,5	7,5	7,7	7,2
Vibrio	8,1	5,3	5,3	5,4	5,3	5,5	7,9	7,7	7,8	7,9	7,1
Coli	5,1	5,2	8,4	5,4	5,1	4,9	8,4	5,2	8,3	8,1	7,2
Proteus	8,3	5,3	5,1	5,4	5,5	5,5	8,3	8,2	8,4	8,2	6,8
Staphylococ. albus	7,3	6,4	7,0	7,4	7,6	>7.6	7,1	>7,6	6,6	5,3	>7,6
Staphyloc. aureus	6,6	5,0	7,0	5,2	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	5,3	5,1	>7,6
Pseudo-Diphteria .	>7,6	5,6	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	>7,6	7,4	>7,6	>7,6
Diphteria po 48 godz.	7,1	6,3	6,7	6,7	7,2	7,7	6,7	—	7,6	6,2	7,3

Ph od 7,5 — 4,0 a nawet niżej 4,0, to zmian tych nie można oznaczyć zapomocą jednego tylko wskaźnika. Wiadomo bowiem, że najlepsze nasze wskaźniki dają praktycznie zmianę barw najwyżej w obrębie Ph, różniących się o 2,0 (*Kohltopf* [6]).

Czerwień metylowa (metylred) zmienia swą barwę w granicach od Ph 4,4 — 6,0, błękit bromo-tymolowy (brom thymol blue) od Ph 6,0 — 7,6. Wobec tego, ażeby określić zmianę stężenia jonów wodorowych przy zakwaszaniu się cukru, należy skombinować przynajmniej dwa wskaźniki. W tym celu zmieszaliśmy dwa wskaźniki, czerwień metylową i błękit bro-

mo-tymolowy (0,1 czerwieni metylowej, 0,4 błękitu bromo-tymolowego i 100 ccm. alkoholu do 2 cm^3 pożywki 0,1 roztworu). W ten spoób otrzyma liśmy mieszaninę wskaźników, która zmienia swą barwę w granicach od Ph 4,4 — 7,6. Mieszanina tych wskaźników daje następujące zabarwienie: około Ph 7,0 jest zieloną, około 6,0 — żółtą, około 5,0 — czerwoną. Jeżeli chodzi o dokładne określenie Ph, należy zabarwienie danego płynu porównać z zabarwieniem skali, przyrządzonej z roztworów o określonem Ph. Ponieważ pożywki z cukrami mają własną barwę i zmętnienie, których skala nie posiada, przeto przy dokładnych określeniach Ph należy je skompensować. Posługiwać się można w tym wypadku komparatorem Walpola, w razie braku tegoż zwykłym statywem, który ma dwa rzędy otworów na jednym poziomie. Po lewej stronie komparatora stawiamy pożywkę cukrową z odpowiednim wskaźnikiem, a przed nią probówkę z wodą: po prawej stronie odpowiednią probówkę ze skali, a za nią probówkę z wyrośniętemi bakterjami na tejże pożywce, lecz bez wskaźnika, w celu skompensowania własnej barwy i zmętnienia pożywki. W ten sposób można określać Ph z dokładnością do 0,1.

Zapomocą mieszaniny błękitu bromo tymolowego i czerwieni metylowej, można zupełnie ściśle określać stopień zakwaszenia cukru przez bakterje, o ile to zakwaszenie nie sięga poniżej Ph 4,4. Różnice w barwach są bardzo wyraźne. Kombinację tych dwóch wskaźników można dodawać jedynie do pożywki z wyrośniętemi bakterjami. Nie można jej dodawać do pożywki niewyrośniętej, ponieważ bakterje wyeliminowują zupełnie czerwień metylową, czy to pochłaniając ją, czy rozkładając, tak że w pożywce z wyrośniętemi bakterjami pozostaje wyłącznie błękit bromo-tymolowy; fakt ten notuje również *Medalia* [7]). Wynika z tego, że mieszaninę tych wskaźników można dodawać do hodowli już wyrośniętej, przyczem wynik należy odczytać natychmiast, gdyż po upływie 30 minut czerwień metylowa zostaje wyeliminowana. Ma to tę wadę, że nie można obserwować postępujących zmian w reakcji, co niekiedy bywa rzeczą ważną. Trudności te można obejść w ten sposób, żeby do pożywek, przed posianiem bakteryj, dodawać jedynie błękitu bromo-tymolowego, który nie zmienia się pod wpływem bakteryj, a jeżeli bakterje zakwaszają pożywkę poniżej 6,2, można dodać czerwieni metylowej i odczytać ostateczne wyniki.

Zamiast błękitu bromo-tymolowego można używać purpury bromo-kresolowej (*brom cresol purple*) w roztworze wodnym 0,02%, dodając 0,1 na 2 ccm. pożywki. Wskaźnik ten zmienia, w granicach Ph 5,2 — 6,8, barwę żółtą na fioletową, przytem rozpuszcza się lepiej, niż błękit bromo-tymolowy. Ponieważ purpura bromo-tymolowa zmienia barwę do Ph 5,2, przeto zakwaszenie wielu gatunków bakteryj można oznaczyć przy pomocy tego jednego wskaźnika. Gdy zakwaszenie idzie dalej, można dodawać następnie czerwieni metylowej, podobnie jak przy błękicie bromo-tymolowym.

Jeżeli mamy do czynienia z bakterjami, które zakwaszają poniżej Ph 4,4, to już czerwień metylowa nie wystarcza i należy uciec się do innych wskaźników, jak błękitu bromo-fenolowego (*brom phenolblue*) 0,04% ego, w ilości 0,1 ccm. na 2 ccm. pożywki, który zmienia barwę żółtą na błękitną od Ph 3,0 — 4,6 oraz błękitu tymolowego (*thymolblue*) 0,04%-ego,

w ilości 0,1 ccm. na 2 ccm., który zmienia barwę czerwoną na żółtą w granicach od Ph 1,2 — 2,8. Te dwa wskaźniki można skombinować razem; otrzymujemy wtedy skalę od 1,2 — 4,6.

Wszystkie wskaźniki, wymienione powyżej, znoszą dobrze sterylizację, nie wpływają na wzrost bakteryj, nawet w stężeniach kilkakrotnie większych i nie ulegają zmianie pod wpływem krótkiego hodowania bakteryj, z wyjątkiem czerwieni metylowej, którą, jak wspominaliśmy, bakterje wyeliminowują bardzo szybko.

STRESZCZENIE.

Poszczególne gatunki bakteryj zakwaszają cukry do Ph w różnej wysokości. Stopień zakwaszania cukrów jest charakterystyczny dla danego gatunku bakteryj. Dotychczasowe metody badania zakwaszania cukrów przez bakterje nie pozwalają na określenie tego stopnia. Dodając do pożywek cukrowych błękitu bromo-tymolowego lub purpury bromo-kresolowej, można określić stopień zakwaszenia podłoża przez bakterje, słabo zakwaszające cukry. Jeżeli zakwaszenie idzie dalej, niż do Ph 6,0, poniżej Ph 5,2, należy dodać do wyrośniętej już hodowli czerwieni metylowej. W ten sposób można określić stopień zakwaszenia do Ph 4,4. W razie jeszcze silniejszego zakwaszenia, należy użyć wskaźników błękitu bromofenolowego i błękitu tymolowego, zapomocą których można określić stopień zakwaszenia do Ph 4,6 — 1,2.

PIŚMIENNICTWO.

1) Sierakowski. Przegląd Epidemjologiczny. 1922, I, 549.
2) Laurens i F. Forster. Journ. of Bact. 1921, 6.
3) Sheer. Bioch. Zeitschr. 1922, 130, 534.
4) Sheer. Zeitschr. für Kinderheilkunde. 1921, 29, 252, cytowane według Berichte ü. d. Ges. Phys. 1921, 9, 403.
5) Mc. Intosh, Warwick James, Laurens Barlow. Brit. Journ. of Exp. Path. 1922, 10, 138.
6) Kohltopf. Farbenindicatoren.
7) Medalia. Journ. of Bact. 1920, 5, 441.

De l'Institut Epidemiologique d'État à Varsovie.
(Directeur Dr. L. Rajchman).

Signification du degré de l'acidification des milieux sucrés par les bactéries à l'aide de la méthode de determination de la concentration en ions d'hydrogène.

Par le Dr. STANISLAS SIERAKOWSKI.
Vice-Directeur de l'Institut.

RESUMÉ.

Certaines bactéries acidifient les milieux sucrés jusqu'à un Ph différent. Le degré de cette acidification est caractéristique pour le genre determiné des bactéries.

Les méthodes employées jusqu'à maintenant pour examiner l'acidification des milieux sucrés par les bactéries ne permettent pas de faire cette détermination.

En ajoutant aux milieux sucrés du bleu de bromo-thymol ou de la pourpre de bromo-crèsol, nous pouvons définir l'acidification du milieu produite par les bactéries ayant une action fermentative faible. Si l'acidification va plus loin que Ph 6,0 au dessous de Ph 5,2 — il faut ajouter à une culture déjà developpée de la rouge de mèthyle. Ainsi on peut définir l'acidification jusqu'à Ph 4,4. Dans les cas d'une acidification plus forte il faut se servir comme indicateur du bleu de bromo-phénol et du bleu de thymol à l'aide desquelles nous pouvons définir l'acidification allant jusqu'à Ph 4,6 — 1,2.

Z Państwowego Zakładu Epidemjogicznego w Łodzi.
(Kierownik Prof. Dr. F. Venulet).

O wyodrębnianiu drobnoustrojów zapomocą t. zw. „Metody włoskowatego przenoszenia się bakteryj po bibule".

Podała

KAZIMIERA STERLING
st. asystentka Zakładu.

Wymieniona w nagłówku metoda, podana przez *Friedbergera* i *Püttera*, pozwala na różniczkowanie bakteryj dzięki ich niejednakowym własnościom adsorbcyjnym. Zanim ją opiszemy, zaznaczymy, iż na zjawisko adsorbcji u bakteryj, przed badaniami *Friedbergera*, zwrócił uwagę *Eisenberg*. Z licznych doświadczeń tego autora wynika, że naogół bakterje gramdodatnie o wiele silniej się adsorbują przez różne substancje, jak węgiel zwierzęcy, glinka i t. p., niż bakterje gramujemne. Uwidocznić to można w doświadczeniu, dokonanem z mieszanemi zawiesinami tych dwuch gatunków bakteryj: ponieważ adsorbcja usuwa z zawiesiny bakterje gramdodatnie w znacznie wyższym stopniu, niż gramujemne, przeto otrzymujemy w przesączu znaczne wzbogacenie się ilości bakteryj gramujemnych.

Dzięki niejednakowej adsorbcji bakteryj przez błonnik różne bakterje z różną szybkością wznoszą się po skrawku bibuły, zanurzonym w zawiesinie, podobnie jak przy tak zwanej „analizie kapilarnej" różne ciała, rozpuszczone w wodzie, mają niejednakowe zdolności wznoszenia się pod górę.

Oparta na powyższych zasadach metoda *Friedbergera* polega na tem, że do zawiesiny odnośnych bakteryj autor zanurza na głębokość 0,5—1,0 cm. pasek bibuły, szerokości 5 cm. i długości 20 cm.; zanurzenie trwa 15 m.; po usunięciu zawiesiny *Friedberger* czeka jeszcze 30 m., a następnie wysiewa bakterje z oddzielnych odcinków bibuły, przez odciskanie ich, na płytkach *Endo*. W ten sposób udało się wykazać, że bakterje gramdodatnie zajmują dolne odcinki bibuły, czyli że silniej ulegają adsorbcji przez błonnik bibuły, niż gramujemne, które się unoszą znacznie wyżej; według doświadczeń *Friedbergera* lasecznik wąglika podnosi się do wysokości 1,1 cm., a lasecznik tyfusu do wysokości 4,1 cm. Przytoczone przykłady stoją na przeciwległych krańcach skali, podanej przez *Friedbergera*; prze-

ciętna dla dwunastu gatunków bakteryj gramdodatnich wynosi 1,7 cm., a dla 17 gatunków gramujemnych 3,2 cm.

Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że śród gramujemnych bakteryj znajdują się gatunki: adsorbowane silniej, niż inne, np. lasecznik, okrężnicy i słabiej, np. lasecznik duru. To też w doświadczeniu laseczniki durowe zazwyczaj górują nad lasecznikami okrężnicy, w dosłownem tego słowa znaczeniu, co ułatwia różnicowanie tych dwuch gatunków bakteryj.

Jeszcze kilka wyjaśnień, dla lepszego zrozumienia interesującego nas tu zjawiska. O ile sama adsorbcja bakteryj jest czynnikiem czysto fizykalnym, to nie ulega natomiast wątpliwości, że różnice w podatności adsorbcyjnej poszczególnych grup bakteryj zależą od ich własności koloidowo-chemicznych. Według *Klingera* większe lub mniejsze powinowactwo bakteryj do wody jest przyczyną nierównomiernego wiązania wody przez powierzchnię bakteryj; dzięki temu, część bakteryj (do których należą bakterje gramujemne), posiada jakby osłonki wodne, grające rolę izolatorów, które je chronią od zlepiania się przy zetknięciu się z innemi cząsteczkami i utrudniają adsorbowanie ich przez ciała obce. Bakterje gramdodatnie odznaczają się, odwrotnie, zmniejszonem powinowactwem do wody, prawdopodobnie dzięki większej zawartości lipoidów (*Eisenberg*), są zatem pozbawione owych wodnych osłonek ochronnych, wskutek czego łatwo się zlepiają i adsorbują. Zatem, w warunkach doświadczeń *Friedbergera*, bakterje o powierzchni gorzej uwodnionej, stykając się z włóknami bibuły, łatwiej się do nich przymocowują i nie są porywane przez włoskowatość tak wysoko, jak bakterje o dobrych osłonkach wodnych. Ruch własny bakteryj nie odgrywa żadnej roli w danem zjawisku.

Doświadczenia nasze dotyczyły wzajemnego zachowania się laseczników duru i okrężnicy w różnych warunkach, zarówno fizycznych, jak chemicznych i biologicznych. Technikę stosowaliśmy nieco odmienną od techniki *Friedbergera*, używając pasków bibuły szerokości 1 cm., długości 15 cm. Dolny koniec przymocowanego w statywie paska, zanurzaliśmy w zawiesinie na głębokość około 0,5 cm. na przeciąg 30 m., poczem najniższy zanurzony odcinek odcinaliśmy jałowemi nożyczkami, a pozostały skrawek odciskaliśmy na powierzchni pożywki *Endo*. Już pierwsze próby w zupełności potwierdziły dane *Friedbergera*, gdyż laseczniki duru zawsze wędrowały wysoko po bibule, przy stosowaniu zarówno laboratoryjnych, jak i świeżo hodowanych szczepów. Laseczniki okrężnicy zachowywały się różnie: najgorzej podnosiły się stare szczepy laboratoryjne (do $^1/_4$ wysokości, osiągniętej przez laseczniki duru); inne podnosiły się do połowy papierka, pojedyńcze zaś kolonje osiągały jeszcze większą wysokość.

Najwrażliwszym na różne bodźce zewnętrzne okazał się laboratoryjny szczep okrężnicy. Wyraźny wpływ na zwiększenie podatności adsorbcyjnej wywierał dodatek soli kuchennej do zawiesiny; w zawiesinie, przygotowanej nie jak zwykle, w rozczynie soli fizjologicznej, lecz w rozczynie 5%-ym NaCl, lasecznik okrężnicy zajmował najniższą część skrawka bibuły lub nie unosił się zupełnie, gdy lasecznik duru był porywany bez zmian w górę. Nawet przy 3%-ym roztworze soli widoczna była różnica w własnościach adsorbcyjnych badanych bakteryj. Różnice, w porównaniu

jednocześnie dokonanemi próbami kontroli, były tak rażące, iż zdawało ię, że metoda ta znajdzie szerokie zastosowanie praktyczne. Niestety, wieżo wyhodowane szczepy okrężnicy nie odznaczały się podobną rażliwością. Gdy więc szczepy durowe laboratoryjne nie różnią się d szczepów świeżo wyhodowanych, właściwości szczepu okrężnicy, przez zas dłuższy hodowanego na podłożach sztucznych, musiały ulec znacznym mianom (prawdopodobnie wskutek różnicy w przemianie materji). Obnienie temperatury (całe doświadczenie wykonano w ciepłocie 0° — 3° C.) ie wywiera wyraźnego wpływu na przebieg zjawiska. Ponieważ istnieje iele odmian laseczników okrężnicy, nie można mówić ogólnie o ich właościach adsorbcyjnych; spotykają się np. szczepy świeżo wyodrębnione, tóre wędrują również wysoko po bibule, jak laseczniki duru (*Frieaberger*, *Hofman*). Odmienne wyniki dała zawiesina obydwuch powyższych zczepów z dodatkiem 1% go cukru gronowego: laseczniki duru uniosły ię zaledwie do połowy zwykłej wysokości i tylko trochę ponad laseczniki okrężnicy. Analogiczne spostrzeżenia z 1%-wą i 2%-wą żelatyną dnotował *Hofman*; czynniki te utrudniają prawdopodobnie wsysanie zaiesiny przez bibułę. Nasycając bibułę 5%-ym peptonem lub 5%-ym rozworem soli i następnie wysuszając ją, również zmieniamy jej własności dsorbcyjne; w takich warunkach laseczniki okrężnicy unoszą się znacznie yżej, niż na bibule zwykłej lub zmoczonej wodą destylowaną i wysuszoej. Jaki wpływ na adsorbcję bakteryj przez bibułę wywiera wielkość unozących się po niej cząsteczek, dowodzą doświadczenia z lasecznikami duowemi, zlepionemi surowicą wysokowartościową. Odnośną zawiesinę przyotowano w fizjologicznym roztworze Na Cl z dodatkiem wysokowartościoej surowicy durowej, przy zachowaniu poza tem techniki zwykłej. Okaało się, że laseczniki duru prawie wcale się na bibule nie uniosły, gdy aseczniki okrężnicy uniosły się tak jak poprzednio, po uwolnieniu zaś od lepników przez zmycie zawiesiny, laseczniki duru unosiły się jak przed odaniem surowicy zlepiającej.

Ostatnia grupa badań naszych dotyczyła pośredniego wpływu czyników chemicznych na adsorbcję. W tym celu dodawaliśmy do zawiesiny akteryjnej barwników anilinowych, karbolu, kwasu octowego, sody i inych związków chemicznych. Aby osiągnąć intensywniejsze oddziaływanie, dodawane substancje pozostawiano w zawiesinie w ciągu kilku godzin, a nawet w ciągu doby, zarówno w temperaturze pokojowej, jak cieplarce, przy 37°. Z pośród sporej liczby doświadczeń tego rodzaju ześć tylko wykazała wyraźny wpływ dodawanych substancyj na badane rzez nas zjawisko. Fjolet kryształowy, w rozcieńczeniach /100,000 i 1/500,000, nie wykazywał po trzygodzinnem oddziaływaniu cieplarce wyraźnego wpływu na adsorbcję; natomiast po 24 godzinach óżnica była dość znaczna: w rozcieńczeniu 1/100,000, laseczniki okrężnicy ajęły połowę paska bibuły, zamiast 3/4, jak poprzednio, a w rozcieńczeniu /500,000 laseczniki okrężnicy uniosły się w małym stopniu, resztę zaś paierka zajął wyłącznie dur.

Dodatek do zawiesiny zieleni malachitowej nie wpływał yraźnie na zdolność bakteryj do unoszenia się po bibule. Odbywało się

ono po 2-godzinnem działaniu barwnika na zawiesinę. Rozcieńczenia braliśmy takie, jakie są używane do miareczkowania pożywki z zielenią malachitową (1 : 9,000, 1 : 18,000, 1 : 27,000, 1 : 36,000, 1 : 54,000). Najwrażliwszym na działanie tego barwnika okazał się laboratoryjny szczep okrężnicy, szczepy zaś świeżo wyodrębnione były odporniejsze nawet od szczepów durowych, zarówno laboratoryjnych, jak i świeżych. W związku z omawianem tu zjawiskiem zasługują na uwagę badania zawiesin bakteryjnych odnośnie ich napięcia powierzchniowego; wykazały one równie znaczną różnicę pomiędzy lasecznikami duru a lasecznikami okrężnicy (*Gildemeister*).

Metoda unoszenia się bakteryj wzdłuż bibuły zasługuje niewątpliwie na uwagę z teoretycznego punktu widzenia; praktyczne jej zastosowanie wydaje się narazie problematycznem, zwłaszcza, gdy chodzi o wyodrębnienie duru z kału. O ile łatwo wykryć jest laseczniki duru w kale, sztucznie zakażonym, o tyle w warunkach naturalnych metoda ta daje wyniki znacznie gorsze, niż posiewy na podłożach barwnych. Przyczyny tego należy upatrywać w zbyt ścisłem połączeniu bakteryj z cząsteczkami kału, co oczywiście musi wpływać ujemnie na zdolność unoszenia się po bibule laseczek durowych.

Wnioski.

1) Różne gatunki drobnoustrojów unoszą się w górę po zanurzonej w zawiesinie bibule na różną wysokość, wskutek niejednakowego adsorbowania ich przez błonnik.

2) Zjawisko to pozwala na wyodrębnianie bakteryj drogą zaszczepiania bakteryj przez odciskanie z różnych okolic skrawków bibuły na podłożu *Endo*.

3) Laseczniki duru zazwyczaj wędrują w górę o wiele wyżej, niż laseczniki okrężnicy; wręcz odwrotnie zachowują się laseczniki duru, zlepione surowicą wysokowartościową.

4) Dodatek do zawiesiny bakteryjnej różnych środków bakterjobójczych (barwników anilinowych, karbolu), jako też soli kuchennej, może wpłynąć na adsorbcję; najwrażliwszym pod tym względem okazał się laboratoryjny szczep lasecznika okrężnicy.

5) Z uzyskanych wyników nie zdaje się możliwem wyciągnięcie narazie wniosków o znaczeniu praktycznem.

PIŚMIENNICTWO.

1) Friedberger. Münch. Med. Wochenschr. 1919. **LXVI** (№ 48).
2) Friedberger i Pütter. Münch. Med. Wochen. 1920. **LXVII**. 398.
3) Pütter. Archiv für Hygiene 1919. **LXXXIX**
4) Klinger. Münch. Med. Wochenschr. 1920. **LXVII**. 74.
5) Hofmann. Münch. Med. Wochenschr. 1921. **LXVIII**. 71.
6) Gildemeister. Centralbl. f. Bakteriol. Orig. 1919. **LXXXIIII**. 497.
7) Eisenberg. Przegląd Epidemjologiczny. 1921. I. 233.

ZUSAMMENFASSUNG.

Aus dem Staatlichen Epidemiologischen Institut in Łódź.
(Direktor Prof. Dr. F. Venulet).

Ueber Isolierung der Mikroorganismen durch Steigen auf dem Filtrirpapier.

KAZIMIERA STERLING
Asistentin d. Institut.

Verfasserin bestätigt die Angaben von *Friedberger* und *Pütter*, dass erschiedene Arten von Bakterien auf Fliesspapier verschieden hoch steigen. *Typhus*-bakterien steigen höher als *Coli*; agglutinierte Bakterien weniger och, als nichtagglutinierte. Der Zusatz von kleinen Mengen desinficie-ender Substanzen beeinflusst die Steighöhe. Für Isolierung der *Typhus*-akterien aus dem Stuhl wird die Methode kaum eine Anwendung finden.

Z Państwowego Zakładu Epidemjologicznego w Krakowie.
(Kierownik Prof. D-r J. Nowak).

Witaminy a bakterje.

(STRESZCZENIE POGLĄDOWE)

Podał

D-r FILIP EISENBERG
Kierownik Oddz. Bakterjologicznego.

I.

Nauka o odżywianiu się bakteryj przechodzi w rozwoju swym zasadniczo te same okresy, co wyprzedzająca ją nauka o odżywianiu się roślin i zwierząt. W okresie wstępnym empirja, powoli się rozwijająca i skrępowana częstokroć warunkami przyrodzonemi, niejednokrotnie genialna, stwarza system odżywiania dla roślin użytkowych i zbytkownych, dla zwierząt domowych, hodowlanych i człowieka, uczy wykorzystywać materjał, dostarczany przez przyrodę, obrabiać go i zmieniać w różnych kierunkach, konserwować i przyrządzać przez najrozmaitsze zabiegi. W drugim okresie nauka, zbrojna metodami chemji analitycznej, w XX-ym wieku przystępuje do charakterystyki jakościowej i analizy elementarnej pokarmów roślinnych i zwierzęcych, różnych gleb, nawozów i t. p., stwierdza trzy zasadnicze grupy chemiczne ciał, wchodzących w skład ustrojów zwierzęcych i roślinnych—ciała białkowate, węglowodany i tłuszcze—i określa ich znaczenie w mechanizmie życia. Równocześnie, opierając się o zdobycze i metody termochemji, fizjologja odżywiania przeprowadza analizę energetyczną pokarmów, nawozów itp. i stwarza bilans chemiczno-kaloryczny ich funkcyj. W trzecim okresie, który bierze punkt wyjścia z fizjologji roślin, okazuje się, że ten dotychczasowy szemat odżywiania jest niewystarczający i że ciała, które dotychczasowa analiza uważała za, nieuchronny wprawdzie, ale zbyteczny i niezbyt ważny balast, mianowicie woda i sole, odgrywają w mechanizmie przemian życiowych pierwszorzędną rolę, że te dotąd nieco pogardliwie traktowane „zanieczyszczenia“ są regulatorami ważnych własności podkładu życia — współokreślając i modyfikując jego „stan koloidalny“, stwarzając warunki dla funkcji fermentów itp. Wreszcie w ostatnim, czwartym okresie, chlubnie związanym z nazwiskiem naszego

rodaka *Kazimierza Funka*, udało się stwierdzić, że poza ciałami białkowatemi, węglowodanami, tłuszczami, poza solami i wodą, znajdują się w wielu środkach odżywczych ciała o mało określonym charakterze chemicznym (aminy o stosunkowo prostej budowie), obecne w tych pokarmach w znikomych ilościach, a koniecznie potrzebne dla prawidłowego przebiegu ważnych spraw odżywczych i wzrostowych. Brak tych ciał wywołuje cały szereg poważnych spraw chorobowych, obejmowanych dziś zbiorową nazwą „awitaminoz". Na miejsce pierwotnie rozróżnianej mnogości witamin, dziś badacze przyjmują witaminę „A", rozpuszczalną w tłuszczach i rozpuszczalnikach lipoidowych i witaminę „B", rozpuszczalną w wodzie, niektórzy nadto witaminę przeciwgnilcową „C".

Nauka o odżywianiu bakteryj (i innych drobnoustrojów), najmłodsza wśród swoich sióstr, przechodzi podobne koleje — tylko te okresy są krótsze, wielokrotnie ze sobą splecione.

Pierwsi bakterjolodzy starali się drogą empiryczną odtwarzać w podłożach warunki odżywcze, jakie bakterje znajdują w przyrodzonych środowiskach. W drugim okresie poddano ściślejszej analizie jakościowo-chemicznej i energetycznej wymogi życiowe różnych bakteryj i stwierdzono niesłychanie rozległą ich skalę i ogromne bogactwo typów, zależnych od przystosowań życiowych, W trzecim okresie zwrócono baczniejszą uwagę na rolę wody i soli, wzgl. jonów w życiu bakteryj, stwarzając ściślejsze podstawy dla zagadnień bakterjologji rolniczej, dla nauki o dezynfekcji, oświetlając różne sprawy biologji bakteryj z punktu widzenia chemji koloidalnej. Najnowsze badania nad znaczeniem zgęszczenia jonów wodorowych dla rozwoju bakteryj, a zwłaszcza dla funkcyj fermentacyjnych, są może najciekawszą zdobyczą tego kierunku bujnie się rozwijającego. Wreszcie w ostatnich latach wchodzi ta nauka, nie zaniedbując trzech dotąd wymienionych dróg, w okres badań witaminowych, które choć dopiero zapoczątkowane obiecują wyjaśnienie niejednego zagadnienia mikrobiologicznego, a może i osięgnięcie ważnych zdobyczy praktycznych. Te to badania będą przedmiotem niniejszego streszczenia.

II.

Z pośrod dwuch możliwych sposobów omawiania tych spraw, historycznego i rzeczowego, wybieram ten drugi, jako pozwalający na czystsze i ściślejsze ujęcie zagadnień. Rozwój ich wysunął trzy zasadnicze pytania, nierównomiernie dotąd opracowane doświadczalnie, na które w miarę możności postaramy się odpowiedzieć. Chodzi mianowicie o to: 1) czy bakterje zawierają witaminy, przydatne dla wyżej uorganizowanych jestestw roślinnych i zwierzęcych, 2) czy same bakterje potrzebują dla swej przemiany materji i swoich spraw wzrostowych witamin i jakich, wreszcie 3) czy ew. jedne bakterje mogą drugim dostarczać witamin.

Pierwsze z zagadnień budzi osobliwe zainteresowanie biologiczne. Dotychczasowe badania wykazały z dużem prawdopodobieństwem, że głównem źródłem witamin, potrzebnych do życia zwierząt wyższych, są

ustroje roślinne, ponieważ same zwierzęta zdają się być niezdolne do syntezy tych ciał i pobierają je w formie gotowej od roślin, objawiając i w tej dziedzinie swój charakter pasorzytniczy, hetorotroficzny, podobnie jak to się dzieje w zakresie głównych pokarmów energetycznych. Zapasy witamin, nagromadzone w niektórych narządach i sokach zwierzęcych, zdają się pochodzić wyłącznie z pokarmów; gdy wykluczyć z tych pokarmów witaminy, zapasy się wyczerpują po pewnym czasie i rozwija się obraz „awitaminozy". Mamy tu, jak się zdaje, do czynienia z kardynalną różnicą ustrojową obu królestw życia i dlatego można szczególną wagę przywiązywać do stwierdzenia, jak pod tym względem zachowują się bakterje. O blizko spokrewnionych drożdżach wiemy, że są bogatem źródłem witamin i jako takie często były używane w doświadczeniach nad awitaminozami (angielski produkt handlowy „Marmite Food" jest wytworem zautolizowanych drożdży). Co do bakteryj, w tym kierunku niewiele wiemy. *Paccini* i *Russell* mogli zapobiec następstwom zgubnym djety bezwitaminowej przez podawanie wyciągu alkoholowego z bakteryj durowych, hodowanych na podłożu mineralnem *Uszyńskiego*. Zwierzęta doświadczalne okazywały stały przyt na wadze, podczas gdy kontrolne wszystkie zginęły w ciągu 4 tygodni. *Hon* natomiast twierdzi, że *Bac. subtilis*, *Bact. paratyphi B.* i bakterje okrężnicowe nie wytwarzają witamin typu *B.* przynajmniej na podłożu syntetycznem *Uszyńskiego* (podobnie *Cooper* co do bakt. okrężnicowych) [1]).

Za możliwością wytwarzania witamin przez bakterje przemawiają też spostrzeżenia *Portiera* i Pni *Randoin* wykazujące, że króliki znoszą dobrze djetę bezwitaminową, o ile mają możność, co zwykły czynić, pożerania własnego kału. Podobnie i gołębie znoszą bezkarnie taką djetę, o ile do niej dodać kału króliczego. Autorzy przypuszczają, że bakterje jelitowe królika wytwarzają w tych doświadczeniach brakujące witaminy.

Zagadnienie, czy bakterje są zdolne do wytwarzania witamin wzgl. które ich gatunki, ma specjalne znaczenie ze względu na bardzo ciekawą sprawę „życia jałowego, tj. bez bakteryj". Wiadomo, że podobne doświadczenia często dają bardzo mierne wyniki, że jałowo hodowane zwierzęta są charłacze i łatwo giną. Otóż zabiegi, służące do wyjałowienia pokarmów, niszczą przeważnie witaminy w nich zawarte i mogą w ten sposób szkodzić zwierzętom, możnaby jednak także przypuścić, że bakterje przewodu pokarmowego potrzebne są dla gospodarza, jako wytwórcy witamin i że stąd pochodzą szkodliwe następstwa jałowego odżywiania. Z poglądem takim, jednak znacznie rozszerzonym, spotykamy się u *Portiera*. Twierdzi on, że w tkankach wyższych zwierząt, a zwłaszcza w tkance tłuszczowej narządów wewnętrznych i płciowych, znachodzą się liczne bakterje, uprawiające symbiozę z makroorganizmem (t. zw. „symbioty") i dostarczające mu drogą syntezy witamin. Wyjałowienie pokarmów działałoby szkodliwie przez to, że znosiłoby odnowę symbiotów, potrzebną dla utrzymania w odpowiedniej ilości tych współpracowników ustroju. Hipoteza ta spotkała się zresztą z surową (jak się zdaje słuszną) krytyką wielu autorów.

---

[1]) Nie mogłem dotąd poznać należącej tu pracy *Eijkmana i van Hoogenhuij-*

Wychodząc z zagadnień „życia jałowego“, *Wollman* badał wytwarzanie witaminy przeciwgnilcowej przez bakterje fermentacji mlecznej (*Bac. bulgaricus*) i witaminy przeciwnerwicowej przez *Amylomucor B.* Wyniki tych doświadczeń były zupełnie ujemne, podobnie jak drugiej serji doświadczeń, wykonanych ostatnio przez *Wollmana* i *Vagliano*, dotyczących wytwarzania witamin wzrostowych A i B przez te same drobnoustroje. Wyników tych jako ujemnych nie można oczywiście uogólniać; może w innych warunkach doświadczalnych te same gatunki pozwoliłyby uzyskać wynik dodatni. Tak np. *Scheunert i Scheiblich* stwierdzają leczniczy wpływ hodowli bakteryj jelitowych i drożdży na awitaminozę gołębi, karmionych łuskanym ryżem, podczas gdy *Weill, Arloing* i *Dufourt* wpływu takiego nie znajdują.

III.

Przystępujemy z kolei do rozpatrzenia drugiego pytania, czy mianowicie bakterje potrzebują witamin do życia i rozwoju. Uprzednio jednak wypadnie zastanowić się nad tem, czy rośliny wogóle potrzebują witamin, skoro zaliczamy bakterje do królestwa roślinnego. *Bottomley i* Pna *Mockeridge* rozszerzyli pojęcie witamin na życie roślin: wykazali oni, że w wyciągach alkoholowych lub wodnych torfu, poddanego działaniu rozkładowemu tlenowców gruntowych w temp. 26°, znajduje się ciało mocno pobudzające rozwój różnych części składowych roślin wyższych. Z wyciągu wyskokowego, rozpuszczonego w wodzie, strąca się to ciało zapomocą kwasu fosforowolframowego a po frakcjonowaniu zapomocą azotanu srebrowego, otrzymuje się wyciąg czynny w minimalnych dawkach (0.35 na 1.000.000). Szczególnie uderzający jest wpływ tego ciała na wzrost kiełkującej pszenicy lub na rozwój kaczeńca (*Lemna minor*), hodowanego na podłożu mineralnem *Detmera.* Ciałom tym *Bottomley* nadał nazwę „auksymonów“ (wzmagających wzrost), nie chcąc narazie przesądzać ich tożsamości z witaminami. Oprócz torfu, stwierdził on, że źródłem tych ciał, mogą być nawozy organiczne, zwłaszcza po gniciu i narośle korzonkowe roślin strączkowych. Uderza ich wybitna ciepłostałość (wytrzymują ogrzewanie półgodzinne do 134°), którą jednak stwierdzono także u niektórych witamin typu A. Nasuwa się tu ważne pytanie, czy ciała te są identyczne z witaminami, pochodzącemi z roślin, ale pełniącemi funkcję bodźców w rozwoju i w zachowaniu równowagi metabolicznej zwierząt. *A priori* można przypuścić, że wobec bardzo różnego typu przemian życiowych u roślin i zwierząt, ciała spełniające tę samą funkcję biologiczną niekoniecznie muszą być identyczne co do swej budowy chemicznej i różnych innych własności. Co do t. zw. „auksymonów“, *Bottomley* stwierdził, że w skład ich wchodzą zasady purynowe i pirimidynowe w połączeniu z kwasem fosforowym (jako produkty rozkładu kwasu nukleinowego w torfie pod wpływem bakteryj). Podobne składniki znalazła Pna *Mockeridge* w nawozach organicznych, nadto zaś prawdopodobnie wytwory syntetyczne bakteryj i niższych grzybków. Nagół sprawa „dodatkowych czynników odżywczych i wzrostowych“ w biologji roślin nie jest jeszcze rozstrzygniętą. Na podstawie ogólnych rozwa-

żań biologicznych można jednak przypuścić, że ciała te, tak rozpowszechnione w królestwie roślin, zwłaszcza w narządach rezerwowych, nie są tylko ubocznie i przypadkowo niejako uposażone w swe ważne funkcje dla rozwoju zwierząt, że chyba w mechanizmie życia roślinnego mają przewidzianą jakąś ważną i poczesną rolę. Z drugiej natomiast strony można być przygotowanym na to, że skoro rośliny potrafią syntetycznie wytwarzać witaminy, trudniej będzie wykazać konieczność tych ciał w roślinach dla wzrostu i prawidłowego funkcjonowania, aniżeli w zwierzętach, które skazane są na pobieranie gotowych witamin z zewnątrz, a których zapasy witaminowe rychło się wyczerpują.

Jeśli z kolei zejdziemy do najniższych roślin, blisko spokrewnionych z bakterjami, to tutaj spotkamy się z szeregiem danych bardzo ciekawych i biologicznie ważnych. Wiemy, że drożdże stanowią obfite źródło witamin użytecznych dla zwierząt, zwłaszcza, o ile uprzednia autoliza je wyzwoli. W pewnych warunkach jednakże można wykazać, że drożdże same potrzebują witamin (ew. ciał wzrostowych). Dawniej już spostrzegano (*Pasteur, Ad. Meyer, Nägeli*), że rozwój drożdży w pożywkach, zawierających sole amonowe jako źródło azotu, odbywa się z pewną trudnością. Dopiero w r. 1901 *Wildiers* wykazał, że o ile na takiej pożywce mineralnej zasiać małą ilość drożdży (*Saccharomyces cerevisiae, Hansen*), to wzrostu brak, natomiast drożdże się rozmnażają przy tej samej ilości zasiewu, o ile dodać do pożywki kilka cm³ odwaru drożdżowego, moszczu, wyciągu mięsnego, peptonu lub brzeczki. Te ciała wzrostowe rozpuszczają się w wodzie i 80%-ym wyskoku, nie rozpuszczają się w czystym wyskoku i eterze, są odporne na działanie kwasów, wrażliwe na działanie zasad, djalizują, giną przez gotowanie w 20%-ym kwasie siarkowym — brak ich w popiele wymienionych dodatków. *Wildiers* przypuszcza, że obok nieorganicznego azotu, drożdże potrzebują jeszcze specjalnych związków azotowych organicznych, którym nadaje nazwę „*bios*“, podkreślając ich wielkie znaczenie życiowe. Drożdże mają wprawdzie zawierać owe ciało, ale są rzekomo niezdolne do wytwarzania go. Zbyt skąpy zasiew ma być bezskuteczny, bo zawiera zamało tego ciała; przy dostatecznym zasiewie nowowytwarzające się komórki pobierają je z rozpadających się starych. Sprawa „*biosu*“ doczekała się wielkiej dyskusji w literaturze mikrobiologicznej, mimo to dotąd niezupełnie jest rozstrzygnięta. Ważny jest przedewszystkiem fakt, stwierdzony przez *Henry'ego*, że wbrew twierdzeniu odkrywcy, drożdże zdolne są do wytwarzania nowego „*biosu*“ — *Kossowicz* zaś wykazał, że i inne gatunki, jak *Penicillium glaucum* i pewien rodzaj *Mycoderme*, potrafją również wytwarzać ciała wzrostowe dla drożdży. Według badań *Devloo'a* chodzi tu o organiczny związek azotowy, zawarty w lecytynie. Czy „*bios*“, odkryty w okresie przedwitaminowym, pozostaje w jakim związku z witaminami właściwemi, niewiadomo. Z nowszych autorów *Williams* wykazał, że hodowle drożdży w podłożach syntetycznych rozwijają się znacznie szybciej i bujniej w obecności małych ilości witamin, niż bez nich, i skłonny jest uważać witaminy te za identyczne z witaminami zwierzęcemi typu B (typ A nie ma znaczenia dla wzrostu drożdży). Dzięki wielkiej swej wra-

żliwości na działanie witamin, mogłyby jego zdaniem drożdże służyć za odczynnik na te ciała.

Wychodząc z tych badań, *W.* podał metodę określania ilościowego witamin na podstawie rozmnożenia się jednej komórki w podłożu mineralnem z dodatkiem badanego wyciągu. Ponieważ ta metoda dawała wyniki niezupełnie zadowalające, zastąpił ją potem metodą grawimetryczną, zapomocą której porównuje plon z podłoża mineralnego i z takiegoż podłoża z dodatkiem badanego wyciągu. Że chodzi tu o prawdziwe działanie witaminowe, a nie o działanie innych ubocznych ciał odżywczych, dowodzi według *W.* spostrzeżenie, że dodatek aminokwasów, zawartych w wyciągach drożdżowych, do podłoży mineralnych nie poprawia ich wartości odżywczej. Podobną metodę określania ilościowego witamin na podstawie pobudzenia wzrostu drożdży podali *Funk* i *Dubin*; miarą funkcji wzrostowej jest plon drożdżowy, mierzony wysokością osadu, uzyskanego przez odwirowanie drożdży. Przy pomocy tej metody badali autorzy wpływ różnych czynników chemicznych na witaminy drożdżowe: co do ich tożsamości z witaminą B, nie wypowiadają ostatecznego sądu. Zdania innych badaczy, co do uzasadnienia i wartości wymienionych metod, są rozbieżne. *Mac Donald* i *Mc. Collum* przeczą, jakoby drożdże w podłożu mineralnem nie mogły żyć bez dodatku witamin, podobnie *Fulmer*, *Nelson* i *Sherwood*. Fakt ten jednak tłumaczy się na podstawie prac *Nelsona*, *Fulmera* i Pny *Cessna*, jakoteż *Hardena* i *Zilvaya* w ten sposób, że drożdże posiadają zdolność syntezy witamin w podłożu mineralnem, a zwiększa się ona przez dodanie witamin (potwierdzanie dawniejszych prac nad „Biosem"). Ujemną krytykę metod ilościowych wypowiadają *Emmet* i Pna *Stockholm*, *Souza* i *Mc. Collum*, *Fleming*, polecają ją natomiast *Eddy*, *Heft*, *Stevenson* i Pna *Johnson* jakoteż *Swoboda*. Ciekawe jest, że według badań Pny *Miller* drożdże, oprócz witaminy wzrostowej, zawierają różniące się od niej ciało rozpuszczalne w wodzie i w wyskoku 70% — 90%-ym, a wydatnie pobudzające wytwarzanie inwertazy.

O ile w tych doświadczeniach wzrost drożdży jest sprawdzianem działania witamin, o tyle *Fraenkel* i *Schwarz* znowu użyli za taki sprawdzian sam akt fermentacji. Znaleźli oni, że różne produkty roślinne, zawierające witaminy zwierzęce, w pierwszym rzędzie otręby ryżowe i wyciągi z drożdży, pobudzają energicznie fermentację drożdżową i to stale w całym jej przebiegu (inne katalizatory działają tylko w początkowym okresie). Skuteczne ciało w drożdżach może być oczyszczone przez szereg strącań i stanowi w tym stadjum około 2‰ pierwotnej masy drożdży.

Działanie witamin na fermentację drożdżową stwierdził również *Sammartino*; chodzi tu nie o wpływy wzrostowe, a o bezpośrednie pobudzenie funkcji zymazy; działanie to jest swoiste, bo pepsyna i trypsyna niedostępne są wpływowi witamin.

Znaczeniem witamin dla grzybków zajmują się ciekawe prace *Linossier'a*. Stwierdził on, że *Oidium lactis* rośnie lepiej na podłożach z cukrem gronowym handlowym, niż chemicznie czystym, nadto zaś, że przy zasiewach ze starych hodowli (osłabionych) i w podłożach mineralnych dodatek soku z winogron, pomidorów lub liści kapusty poprawia znacznie

wzrost lub wogóle go umożliwia, przyczem stopień efektu zależy od ilości dodatku. Podobne wyniki uzyskał z *Penicillium glaucum* — ujemne natomiast z drożdżami piwnemi i *Sterigmatocystis nigra*. W dalszych badaniach, używając podłoży syntetycznych z dodatkiem cukru gronowego (ogrzanych do 135° celem wykluczenia witamin), stwierdził, że w obecności witamin drożdże zużywają podany cukier szybciej, dają wagę plonu wyższą, niż bez witamin. Różne gatunki grzybków okazują różną wrażliwość na witaminy, doprowadzane zzewnątrz — im więcej same ich wytwarzają, tem mniej ich potrzebują zzewnątrz. Płyny, hodowane po odbytym wzroście, mogą skutecznie zastępować soki roślinne, jako źródła witaminowe. Witaminy te nie są swoiście nastawione na potrzeby gatunku wytwarzającego je. Wytwarzania tych ciał dowodzi fakt, że w podłożach, pozbawionych pierwotnie własności witaminowych, można je wykazać po hodowli. Ważna jest zależność zapotrzebowania od stanu biologicznego (osłabiony zasiew!). Według *Linossiera* grzybki stanowią ogniwo pośrednie między wyższemi zwierzętami, koniecznie potrzebującemi witamin, lecz niezdolnemi do ich wytwarzania, a pewnemi drobnoustrojami, nie potrzebującemi ich a produkującemi je w nadmiarze. Według *Goy'a* różne grzybki, drożdże i bakterje mogą rosnąć na podłożach bezwitaminowych, jednak wzmaga się szybkość wzrostu, o ile dodać małą ilość płynu hodowanego tego samego lub innego gatunku. Z hodowli *Mucor mucedo* wyosobnił *G.* zapomocą eteru związek organiczny kwaśny, krystaliczny, wolny od fosforu i azotu. Ciało nabiera własności witaminowych dopiero przez ogrzanie do swego punktu topliwości (168° — 170°), różni się nadto od znanych witamin tem, że znajduje się także w łuskanym ryżu. Ciało to wpływa również korzystnie na wzrost b. błoniczych i różnych beztlenowców (*Bac. histoliticus, perfringens i sporogenes*).

Jak już wspomniano wyżej stosunek tych „ciał wzrostowych" do właściwych witamin niezupełnie jeszcze jest wyjaśniony. Nie można a *priori* wykluczyć możliwości, że wobec ustrojów tak różnych, jak wyższe zwierzęta i najniższe rośliny, różne chemicznie ciała będą pełniły funkcje witaminowe. Za tą możliwością przemawiają wyniki badań *Lumière'a*; wykazuje on: 1) że świeże drożdże piwne, ogrzane do 135°, tracą własności lecznicze w awitaminozie gołębi (*Polyneuritis*), natomiast dają wyciągi skuteczne dla wzrostu grzybków w ubogich podłożach (z winianem amonowym i gliceryną), 2) że wyskok wyciąga z drożdży witaminy skuteczne dla zwierząt, zaś ciała wzrostowe dla grzybków dadzą się wyciągnąć z drożdży, wytrawionych wyskokiem, 3) że płyny organiczne tracą swe własności witaminowe dla zwierząt przez filtrowanie przez ziemię wałkowniczą (*fuller earth, terre à foulon*), równocześnie jednak wzmaga się ich skuteczność dla grzybków, 4) że kwas fosforowolframowy i inne strącalniki alkaloidów strącają witaminy zwierzęce, nie zaś grzybkowe, 5) że ogrzewanie do 250° niszczy pierwsze, nie naruszając drugich. Na tej podstawie *Lumière* zaprzecza identyczności tych ciał — może jednak przedwcześnie wobec skąpych wiadomości, jakie o nich posiadamy. Sytuacja jest tu dziś podobna, do tej która była niedawno jeszcze w sprawie mnogości ciał ochronnych i wywoływaczy w imunologji—być może, iż niezadługo, po okresie coraz dalszej analizy, nastanie okres jednoczenia i upraszczania.

Dodatkowo wreszcie należy wspomnieć o badaniach, dotyczących wpływu witamin na wiciowce, które z pośród pierwotniaków są najbardziej spokrewnione z bakterjami. P-na *Flather* stwierdziła, że o ile do hodowli *Paramaecium* w mleku słodowem dodać wyciągu z ryżu, to szybkość podziałów maleje — jednak znaczniej w obecności wyciągu z ryżu łuskanego (pozbawionego witamin), niż niełuskanego (częstość dzienna = 0.84, wzgl. 0.58, wzgl. 0.34). Sok z cytryn (skuteczny środek przeciwgnilcowy) okazał się tutaj nieskutecznym. Pna *Chambers* do podobnych hodowli dodawała soku kartoflanego z małym skutkiem, wyciąg drożdżowy natomiast wyraźnie przyspieszał tempo podziałowe, podobnie wyciąg z nadnerczy. Wobec hodowli w wyciągu z siana, zarówno ten wyciąg, jak wyciąg z przysadki mózgowej, był skuteczny.

Legroux i *Jimenez* badali warunki wzrostu *Leishmannia Donovani* (gruszkowce choroby *Kala Azar*) na agarze z krwią: w tym wypadku krwinki czerwone przemyte nie wystarczają, jako dodatek do hodowli, która wymaga pełnej krwi odwłóknionej, surowicy (wzrost mierny) lub wyciągu z śledziony lub szpiku kostnego, zawierającego krwinki białe. Ciała wzrostowe, zawarte we krwi lub wyciągach, słabną przy ogrzewaniu ponad 45° i giną pomiędzy 90° — 100°.

IV.

Przechodzimy obecnie do samych bakteryj. Z góry już musimy sobie powiedzieć, że prawdopodobnie sprawa witamin u różnych gatunków wzgl. ugrupowań naturalnych będzie miała różny wygląd. Z punktu widzenia fizjologji odżywiania, podobnie jak z wielu innych, bakterje stanowią zapewne nie rodzaj lub rodzinę, jak chcieli niektórzy systematycy, a całe królestwo o wielkiem bogactwie typów odżywczych, uwarunkowanem różnorodnością przystosowań życiowych. Od autotroficznych bakteryj, zdolnych do przyswajania węgla w postaci CO_2, względnie wolnego N atmosferycznego, poprzez bakterje, żywiące się odpadkami organicznemi ze szczególnem uwzględnieniem czy to ciał białkowatych i ich pochodnych, czy to węglowodanów, czy to tłuszczów, aż do gatunków ściśle pasorzytniczych o niesłychanie ciasno zakreślonych możliwościach odżywczych, mamy szeroką skalę — niemal tak szeroką, jak całe królestwo roślinne i zwierzęce razem wzięte. Biologicznie, jak już wspomniałem, przedstawiają się te różniczkowania odżywcze, jako wyraz różnorodnych przystosowań do pewnych podłoży życiowych — to ujęcie jednak nie zwalnia od obowiązku ściślejszej analizy mechanizmu tych różnych typów przemiany materji. Analiza taka pokazuje nam bardzo różnorodne zdolności analityczne, oparte na wielorakich fermentach — obok nich zaś bogactwo funkcyj syntetycznych — jedne i drugie ponadto wyposażone są w wielką plastyczność i zdolność przystosowawczą, celem uzgodnienia mechanizmu odżywczego ze zmiennemi warunkami życia.

I w sprawie witamin możemy, na podstawie przytoczonych wyżej danych co do roślin wogóle, a drobnoustrojów w szczególności, oczekiwać również pewnej różnorodności. Zasadnicze trzy czynniki będą tu rozstrzy-

gały o zachowaniu się poszczególnych gatunków: 1) fakt, czy dany gatunek sam wytwarza witaminy, wzgl. w jakiej ilości w stosunku do swych zapotrzebowań i w jakiem tempie; 2) fakt, czy w naturalnem wzgl. sztucznem środowisku ma możność znalezienia gotowych witamin, czy też skazany jest wyłącznie na własną produkcję; 3) wreszcie całokształt innych warunków odżywiania będzie niewątpliwie także wpływał wydatnie na zapotrzebowanie witamin jakościowe i ilościowe — im uboższe będą źródła odżywiania, im mniej pomyślny ogół warunków życia, tem zapotrzebowanie to bardziej się uwydatni i naodwrót. Łatwiej będzie wykazać istnienie i potrzebę witamin u gatunków wybrednych, ściśle przystosowanych do życia pasorzytniczego, a niezdolnych do ich wytwarzania, niż u banalnych gatunków wszędobylskich, łatwo zaspokajających swe wymagania, a wytwarzających witaminy. W pierwszych będzie można ewentualnie pójść drogą, którą poszły dotąd klasyczne doświadczenia witaminowe u zwierząt wyższych, t.j. wykazać, że brak witamin, powodując głębokie zaburzenia, uniemożliwia [illegible]zwój i życie tych drobnoustrojów. W drugim przypadku sprawa będzie [illegible]niejsza; aby móc wykazać potrzebę witamin, trzeba będzie zapomocą [illegible]rzystnych warunków zmniejszyć lub znieść ich wytwarzanie, wzgl. [illegible]olić się wykazaniem, że dostatek tych ciał w tych warunkach [illegible]a bujność rozrostu i przyśpiesza jego tempo. Wreszcie jedno jeszcze zastrzeżenie ogólnej natury: wobec ogromnych różnic, jakie dzielą świat bakteryj od wyższych ustrojów, nie możemy pojęcia „witamin" z góry sprowadzać do tych ram, jakie dla nich zdołały dotąd ustalić badania u zwierząt wyższych. Powiedzmy sobie, że funkcje witaminowe będą tu mogły pełnić ciała chemicznie może różne od tamtych — określimy tedy tutaj witaminy, jako ciała konieczne lub korzystne dla wzrostu i rozmnażania się bakteryj, nie przedstawiające bezpośredniej wartości energetycznej (kalorycznej), wzgl. budulcowej, a nie będące jonami.

Pierwszą pracą, w której wprowadzono pojęcie witamin do bakterjologji była praca *Lloyda* (później też *Cole'a i Lloyda*) o wymaganiach odżywczych meningokoków. Nie jest chyba przypadkiem w myśl tego, co wyżej wyłuszczyłem, że za pierwszy przedmiot badań wybrano ten gatunek wybredny i kapryśny, ściśle pasorzytniczy. Autorzy znaleźli, że meningokoki potrzebują do wzrostu z jednej strony pewnych aminokwasów, z drugiej zaś ciał typu witaminowego, ciepłochwiejnych, rozpuszczalnych w wodzie i w wyskoku, łatwo ulegających przychłanianiu (adsorbcji) przez bibułę, mniej przez wełnę szklaną. Zapotrzebowania obu rodzajów ciał są wzajem od siebie zależne. Naogół podłoża używane zwykle zawierają tem więcej aminokwasów, im mniej witamin, i naodwrót. Przystosowując się stopniowo do życia na podłożach sztucznych, obfitujących w aminokwasy, meningokoki ograniczają zwolna swe zapotrzebowanie witaminowe (a może też uczą się wytwarzać witaminy w większej ilości). Idąc śladami tych autorów, *Huntoon* poleca dla hodowli, zwłaszcza wybredniejszych gatunków, wyciągać koloidy z materjałów surowych, roślinnych i zwierzęcych na zimno przed gotowaniem, przy wyjałowianiu nie przekraczać 100°C

i możliwie nie przesączać przez materjały mocno przychłaniające, jak wata, bibuła i t. p. Modyfikując w tym czasie przepisy *Cole'a i Lloyda*, *Huntoon* daje następujący przepis dla sporządzania agaru. Do 500 gr. mięsa wołowego, możliwie świeżego, drobno posiekanego, dodaje się litr wody, 10 gr. peptonu „Bacto", 16 gr. napęczniałego agaru, 5 g. soli i jedno całe jajko — ogrzewa się mieszając ciągle do 68°, alkalizuje się zapomocą 1 cm^3 sody normalnej na 1 litr, ogrzewa się 1 godzinę na łaźni wodnej do 100°, dekantuje się płyn z ponad osadu, ogrzewa się dalej przez pół godziny do 100°, oziębia się w nachylonej pozycji, zdejmuje się pipetą płyn z ponad osadu, zbiera się wydzielony tłuszcz, uwalnia się od ew. strątów przez odwirowanie, sedymentację lub przesączenie przez azbest lub wełnę szklaną. Dla meningokoków lub gonokoków okazał się korzystnym agar półpłynny (5 gr. zamiast 16), zapewniający hodowlom żywotność 3 wzgl. 2 miesięczną (może korzystny wpływ ograniczonego dostępu tlenu). Dla paciorkowców okazuje się korzystną w podobny sposób przyrządzona żelatyna (10 grm.) z 0·15% cukru gronowego z dodatkiem krwi zhemolizowanej; na tem podłożu kolonje paciorkowców mają po 18 godzinach wielkość kolonij b. okrężnicowych. Opisany agar, z dodatkiem 1% aminokwasów zamiast pepto[illegible] i 5% gliceryny, daje bujne hodowle b. gruźliczych. W ostatnim czasie *To*[illegible] i *Buckell* stwierdzili bujny wzrost gonokoków na podłożu *Huntoona*, [illegible] też długą żywotność takich hodowli; wyjałowienie podłoża przez 5' przy 120° osłabia zdatność jego wzrostową, zaś przez 30' niemal ją znosi.

Bardziej zasadniczo stawia sprawę *Kligler*, poszukując w wyciągach narządów zwierzęcych „dodatkowych ciał wzrostowych" (*growth acressory substances)* dla bakteryj chorobotwórczych. Aby wykazać potrzebę witamin, używa on podłoży ubogich i małych stosunkowo zasiewów. Działanie witaminowe uwidocznia się w tych warunkach przez skrócenie okresu wylęgania (wzgl. zahamowania wstępnego wzrostu) hodowli. Wyciągi z serca wołowego, z wątroby, śledziony, nerki, serca, płuc, mięśni, mózgu, jąder i żołądka królików i kotów okazały się skutecznemi, o ile były uzyskane zapomocą rozczynu soli, natomiast wyciągi zapomocą alkoholu z eterem okazały się beskutecznemi, zbliżają się zatem te ciała do witamin typu B. Same przez się wyciągi użyte, w odpowiednich rozcieńczeniach, nie nadają się do hodowli — również nie wchodzi w ich skuteczności w rachubę ich zawartość białkowa, bo można, nie zmniejszając skuteczności strącić z nich ciała białkowate zapomocą wyskoku. Wrażliwość na ogrzewanie zbliża je do znanych witamin. W podobnym kierunku podążają prace *Muellera*; starając się stworzyć najpomyślniejsze warunki rozwojowe dla krwiobójczych (hemolitycznych) paciorkowców i pneumokoków, znalazł on w wyciągach z mięsa wołowego, serca wołowego, sernika i z innych ciał białkowatych, ciało wzrostowe, które łatwo ulega adsorbcji, a strąca się z roztworu zapomocą siarczanu rtęciowego. O ile do takiego roztworu, unieczynnionego przez gotowanie z węglem zwierzęcym, dodać peptonu handlowego lub kwaśnego hydrolizatu sernika lub mięsa, to własności wzrostowe znów się zjawiają, choć oba składniki z osobna są bezskuteczne. Ciało uczynniające w hydrolizacie strąca się zapomocą siarczanu rtęcio-

wego (podobnie jak znane witaminy) i napewno nie jest identyczne z żadnym aminokwasem.

Przez cząsteczkowe strącania można jeszcze w tem ciele wyróżnić dwa składniki X i Y, tak ze ostatecznie funkcja wzmagania wzrostu paciorkowców okazuje się wynikiem współdziałania trzech czynników, tj. X, Y i ciała w unieczynnionym wyciągu.

Wymogom odżywczym paciorkowców chorobotwórczych poświęcone są również badania *Ayersa* i *Mudge'a*, wykazujące, jak krytycznie należy traktować należące tu zjawiska. W wyciągu drożdży autolizowanych znaleźli ci badacze ciało, wzmagające wzrost paciorkowców, ale nie identyczne ze znaną witaminą B (zwierzęcą). Podobne własności wyciągu z kapusty dały się sprowadzić do zawartości cukru gronowego Również rozmaite ciała tłuszczowe pobudzają wzrost paciorkowców; — nie chodzi tu wszakże o zawartość witaminy A, bo i tłuszcze, mało jej zawierające, okazują się równie skuteczne, jak bogate w nie masło lub tran, nadto zaś węglowodory naftowe, waselina i parafina.

Sprawę znaczenia witamin dla bakteryj stanowczo posunęły naprzód poszone niedawno badania *Mc Leoda* i *Wyona*. W pierwszej części autorzy dali wpływ całego szeregu wyciągów i ciał chemicznych na wzrost gron- a złocistego i bakteryj czerwonkowych typu *Shiga*. Celem uproszczenia zagadnienia, hodowali je na 2·5%-ym agarze z dodatkiem 4‰ kwaśnego fosforanu potasowego a bez dodatku ciał odżywczych. Stwierdzali, jakie najmniejsze zgęszczenie tego dodatku umożliwia wzrost bakteryj a mianownik tego zgęszczenia określili, jako „potencję" wzrostową danego ciała (P). Ponieważ stwierdzono u zwierząt i u bakterji (p. *Lloyd*), że w odżywianiu ich aminokwasy odgrywają dużą rolę i że brak ich, podobnie jak brak witamin, może wywoływać poważne zaburzenia wzrostowe, przeto należało, w analizie spostrzeganych wpływów wzrostowych badanych ciał, wykluczyć możliwość, że polegają one na zawartości aminokwasów. (Por. tabl. str. 379).

W tym celu autorzy określają porównawczo tę zawartość (A), a następnie porównują między sobą iloczyn P/A. Gdyby ten iloczyn dla wszystkich ciał badanych był identyczny lub conajmniej bardzo zbliżony, należałoby przyznać aminokwasom decydujące znaczenia w badanych zjawiskach, skoro zaś, jak się pokaże, stosunek ten dla różnych ciał jest bardzo zmienny, można przypuścić przynajmniej dla ciał o dużych wartościach P/A zasadnicze znaczenie innych ciał typu witaminowego. W grupie A zestawione są wyciągi z ciał, znanych z doświadczeń na zwierzętach, jako źródła witamin, w grupie B szereg znanych ciał chemicznych, nie zawierających witamin, w grupie zaś C ciała o wątpliwej zawartości witaminowej. Przegląd iloczynów P/A wykazuje niedwuznacznie, że o sprowadzeniu spostrzeganych wpływów wzrostowych wyłącznie do zawartości aminokwasów mowy być nie może. Wystarczy w tym kierunku zestawić wartości dla nerki I, dla glicyny i dla hodowli pleśni (w rozczynie fosforanów bezwitaminowym z pewnością ubogim w aminokwasy). Naogół autorzy uważają, że przedstawione wyniki przeważnie zgadzają się z hipotezą witaminową, jakkolwiek w pewnych szczegółach wyciągi te zachowują się inaczej, niż znane

Gr.	Ciało	Wyciąg zap.	Potencja	Zaw. aminokwasów	P/A
A	Nerka św. morsk. I	80% wysk.	2000	3,0	667
	Nerka św. morsk. II	80% wysk.	277	9,4	30
	Nerka wołu	80% wysk.	1000	20,8	48
	Żółtko jaja	50% wysk.	1385	16,8	80
	Wątrob. św. morsk.	50% wysk.	500	10,0	50
	Drożdże	H_2O	500	12,8	39
	Drożdże	100% wysk.	500	16,3	31
	Buljon	—	416	10,6	40
	Mięsień	H_2O	357	5,0	71
	Mięsień	50% wysk.	62	1,25	49
	Mleko	—	10	2,4	72
B	Sernik	—	3,3	5	0,7
	Sernik hydroliz.	—	200	38	5,3
	Glukoza	—	<1	—	—
	Glicyna	—	<5	133	0,04
	Asparagina	—	<10	—	—
C	Surow. ludzka	50% wysk.	72	3,2	22,5
	Pepsyna świńska	H_2O	167	11,7	14,3
	Pepton	H_2O	62	11,25	5,5
	Hodowla pleśni	H_2O	5000	—	—

witaminy skuteczne u zwierząt. W drugiej części swej pracy autorzy starali się bliżej określić naturę ciał, zawartych we krwi i w surowicy, a umożliwiających wzrost pneumokoków i meningokoków. Celem lepszego przeglądu niech służy następujące zestawienie.

№	Dodatek do buljonu	Pneumokoki		Meningokoki	
		Prób;	z tego +	Prób;	z tego +
1	3—20% krwi lub surowicy	75	70	56	45
2	id. ogrz. 5—15′ do 100°	17	15		17
3	id. ogrz. 20′ do 115°	48	35	60	52
4	5—10% jaja całego ogrz. 20′ do 115°	3	3	3	3
5	węgiel zwierzęcy	3	3	3	2
6	2—5% wyciągu drożdżowego . . .	6	2	6	0
7	surowica ogrzewana do 115°, mocno zalkalizowana, potem zobojętniona	6	0	6	3

Z tych doświadczeń autorzy wysnuwają wniosek, że witaminy tutaj zdają się nie odgrywać szczególnej roli (wyciąg drożdżowy bezskuteczny, natomiast dodatni wynik z węglem!) i że ogrzewanie surowicy jest korzystne dla meningokoków, a niekorzystne dla pneumokoków. Z własnościami znanych witamin nie zgadza się również fakt, że własności wzrostowe surowic giną przez trawienie peptyczne i tryptyczne, podczas gdy znane witaminy normalnie drogą przewodu pokarmowego dostają się do ustroju. Zapomocą wyskoku nie można z surowic uzyskać skutecznych wyciągów, zapewne tedy własności wzrostowe są związane ze stanem koloidalnym.

Że zagadnienie witamin bakteryjnych nie ogranicza się do bakteryj chorobotwórczych, tego dowodzą badania Pny *Mockeridge* nad wpływem wyciągów torfowych na 4 główne grupy bakteryj ziemnych. Okazało się, że wyciągi te działają wybitnie pobudzająco na wiązanie azotu atmosferycznego przez *Azotobacter chroococcum* i przez *Bact. radicicola* z korzeni roślin strączkowych, tak samo na nitryfikację, zarówno w ziemi, jak w czystych hodowlach bakteryj nitryfikujących. Przeciwnie, wyciągi te nie objawiają działania na funkcje bakteryj amonizujących czy to w ziemi, czy w hodowlach czystych, są obojętne, a czasem nawet szkodliwe dla funkcyj bakteryj denitryfikujących. Wynikałoby stąd, że „auksymony“, zawarte w wyciągach torfowych, nie działają jednolicie pobudzająco na wzrost i na funkcje wszelkich bakteryj, lecz że specjalnie pobudzają drobnoustroje, budujące skomplikowane związki azotowe — może nawet biorą udział

w tej syntezie. Nie potrzeba chyba podkreślać, jak wielkiego znaczenia mogą nabrać te badania, dotyczące tak ważnego rozdziału gospodarki przyrody i człowieka. Podnoszone niejednokrotnie różnice w zachowaniu się ciał wzrostowych, skutecznych wobec bakteryj i innych drobnoustrojów, a znanych witamin, znajdą może wytłumaczenie w ostatniej pracy *Funka* i *Dubina*, znanej mi dotąd, niestety, tylko z krótkiego streszczenia. Autorzy ci wyosobnili z witaminy B ciało, swoiście pobudzające wzrost drożdży i bakteryj, któremu nadali nazwę witaminy D. Co do paciorkowców, okazało się, że potrzebują do rozwoju współdziałania conajmniej dwóch ciał wzrostowych (p. wyżej prace *Muellera*). Udało się uzyskać ciało D, wolne od B, natomiast nie potrafili autorowie uwolnić ciała B od D. O ileby to się w przyszłości powiodło, należałoby według nich powtórzyć z tem ciałem oczyszczonem wszystkie dotychczasowe doświadczenia witaminowe na zwierzętach, o ile dotyczyły one witaminy B. Autorzy ci wypowiadają przypuszczenie, że może ciało wyosobnione z drożdży, podobnie jak ciała witaminowe z sernika, spełnia jakieś specjalne funkcje w ustroju zwierzęcym.

V.

O ile przedstawione dotąd prace nad rolą witamin w życiu bakteryj noszą jeszcze piętno okresu przygotowawczego, orjentacyjnego, o tyle dla jednego gatunku bakteryj, dla bakteryj grypowych *Pfeiffera*, badania okresu wojennego oświetliły sprawę mechanizmu wzrostowego w sposób nieoczekiwany. Mamy tu przed sobą gmach wiadomości, którego budowa skomplikowana, a misterna, uderza, wobec zaledwie położonych podwalin w dziedzinie spraw wzrostowych innych bakteryj. Znaczenie tych zdobyczy jest tem większe, że chodzi tu o gatunek niezmiernie wrażliwy i kapryśny, ciekawy nietylko z punktu niezupełnie dotąd wyjaśnionej etjologji grypy, ale także ze względów ogólnobiologicznych. Zgodnie z tem, co wyżej podkreślałem, właśnie ta wyłączność wymagań odżywczych może ułatwiła, a raczej umożliwiła, ścisłą analizę i odkrycie ciekawego jej mechanizmu. Im gatunek jest wyłączniejszy, im ciaśniejsza skala jego możliwości życiowych, tem czulszym jest odczynnikiem na każdy brak, tem jaśniejsze daje odpowiedzi na pytania, które mu stawiamy w analitycznych doświadczeniach odżywczych.

Jak wiadomo, już odkrywca tego gatunku, *Pfeiffer*, w r. 1892, gdy po długich daremnych usiłowaniach udało mu się go wyhodować na agarze z krwią, zadał sobie pytanie, na czem polega ta potrzeba krwi dla wzrostu tego gatunku. Proste doświadczenia pouczyły, że czynnikiem działającym we krwi są krwinki czerwone, a w nich część płynna (zooid), specjalnie zaś hemoglobina. Nasuwało się oczywiście przypuszczenie, że zdolność hemoglobiny do wiązania tlenu jest istotną podstawą jej funkcji wzrostowej, tembardziej że, jak wiadomo, należy ona do gatunków ściśle tlenożądnych (aerofilnych). Ale następujące doświadczenie, według *Pfeiffera*, przemawia przeciw temu przypuszczeniu: w czystej atmosferze tlenku węgla

bakterje grypowe nie rosną na agarze krwawym, bo brak im tlenu; gdy natomiast do tego naczynia wpuścić nieco powietrza, zjawia się bujny wzrost, jakkolwiek, w obecności nadmiaru CO, wobec wielkiego swego powinowactwa do CO, hemoglobina istnieje w hodowli tylko jako CO-Hb (*Olsen* na podstawie prawa mas podaje w wątpliwość siłę dowodową tego doświadczenia). Na tej podstawie *Pfeiffer* przypuszczał, że hemoglobina zawdzięcza swe funkcje wzrostowe zawartości żelaza, które miałoby służyć za pożywkę dla b. grypowych, podobnie jak np. dla bakteryj żelazistych. Coprawda białczan żelazowy dał mu w tym kierunku wyniki ujemne. Z pośród różnych gatunków krwi najlepiej się nadaje krew gołębia i ludzka.

Cały szereg badaczy starał się w następstwie znaleść inne ciała, któreby mogły skutecznie zastąpić krew w hodowli bakt. grypowych, spodziewając się stąd uproszczenia metody hodowlanej i wyjaśnienia „hemoglobinofilji" b. grypowych. *Nastiukow* twierdził, że można uzyskać bujny wzrost na podłożach z żółtkiem jaja i przypisywał skuteczność zawartemu w żółtku związkowi organicznemu żelaza, hematogenowi. Inni autorzy nie mogli tego potwierdzić, jedynie *Huber* obserwował wzrost do 7-go pokolenia na podłożu z alkalicznym przetworem „hematogenu *Hommla*" (specyfik leczniczy). *Richter* uzyskał zaledwie bardzo skąpy wzrost, dodając tego przetwóru do podłoży, podobnie jak wyjałowioną plwocinę, żółć, żółtko jaja kurzego i gołębiego — wyniki ujemne dała wolna od krwi ropa, roztwory hematyny i połączenie białkowo-żelazowe, ferratyna. *Cantani* hodował przez 30 pokoleń b. grypowe na podłożach z dodatkiem nasienia i soku jądrowego. Starając się głębiej wniknąć w mechanizm funkcyj wzrostowych tych ciał, zbadał on cały szereg ciał odżywczych, pochodzenia przeważnie zwierzęcego: pobudzającemi wzrost okazały się surowica ludzka, płyn puchlinowy, żółtko jaja, globulina surowicza, cholesteryna, mucyna, protalbumoza, disalbumoza, protagon, żółć bogata w mucynę, oksyhemoglobina i hemoglobina zredukowana, cholesteryna, albumina surowicza i z jaja. Bezskuteczne były dodatki lecytyny, nukleiny, hematyny, mleka, somatozy, nutrozy. Na tej podstawie przypuszczał *Cantani*, że nie składnik barwikowy, a składnik białkowy hemoglobiny jest czynnikiem wzrostowym w hemoglobinie. Na podstawie zjawisk t. zw. „faworyzacji wzrostowej" przez obce bakterje, przypuszcza C., że i białko bakteryjne może odgrywać podobną rolę.

Jeszcze przed *Cantanim* stwierdził był *Grasberger* wspomniane zjawisko, polegające na bardzo bujnym wzroście b. grypowych w otoczeniu kolonij innych gatunków, zwłaszcza gronkowców (na wysiewach z plwociny). Także na agarze, zmieszanym z zabitą przez ogrzanie młodą hodowlą gronkowców, występował wzrost olbrzymi. Próby zastąpienia krwi żółcią lub solami żelazowemi w obecności gatunków faworyzujących, dały wyniki ujemne, natomiast uzyskał G. wzrost na agarze z dodatkiem zasadowego roztworu hematogenu *Hommla*. W symbiozie okazał się również możliwym wzrost b. grypowych na podłożach z krwią gotowaną, zawierającą methemoglobinę, które były niestosownemi dla wzrostu hodowli czystych Istotę działania „faworyzującego" upatruje G. w przemianie barwika krwi, która, jużto z hemoglobiny, jużto z powstałej z niej hema-

tyny, wyzwala ciało wzrostowe dla b. grypowych. Analogiczną przemianę można uzyskać przez ogrzewanie krwi, stosowane z pomyślnym skutkiem w metodach hodowlanych *Vogesa* i w nowszej metodzie *Levinthala*. Dowodzi tego fakt, że bujny wzrost, uzyskany na agarze *Vogesa*, nie wzmaga się już przez równoczesny wysiew gronkowców.

Także systematyczne badania *Ghona i Preyssa* nie potwierdziły w wielu punktach wyników *Cantaniego*. Ani dodatek bakteryj obcych, ani nasienia, wolnego od krwi, nie umożliwia wzrostu b. grypowych na podłożach bez krwi. Wyniki *Cantaniego* byłyby według nich złudzeniem, spowodowanem wskutek tego, że badania spektroskopowe podłoży, stosowane przez tego autora, nie mogą upewnić co do braku minimalnych domieszek krwi wzgl. hematyny, pochodzącej z mięsa, użytego do wyciągu. Czysta hematyna okazała się niezdatną do zastąpienia krwi, natomiast dała wyniki dodatnie dla hodowli symbiotycznych. Działanie „faworyzujące" polega według tych autorów na przenikaniu produktów bakteryjnych do podłoża, ponieważ i dodatek bakteryj gotowanych wzmaga wzrost b. grypowych. Podobnie jak inni badacze, także G. i P. nie zdołali zastąpić barwika krwi i jego pochodnych zapomocą różnych nieorganicznych i organicznych związków żelazowych.

Częściowe potwierdzenie wyników *Cantaniego* przynosi praca *Luerssena* (z Instytutu Pfeiffera), któremu udało się hodować b. grypowe w symbiozie z pewnemi innemi gatunkami na agarze bez krwi. Dodatnie wyniki dały tu gronkowce, *B. coli*, *B. prodigiosum*, *violaceum*, *V. Metchnikovi*, ujemne—b. błonicze. Dodatnie wyniki dały też bakterje, zabite przez ogrzanie do 60° (przez 3 godziny), ujemne natomiast ogrzewane do 100° (1.5') (szczegół, który się zgadza z hipotezą witaminową). Ciało faworyzujące zawarte jest w samej komórce bakteryjnej i po jej obumarciu dyfunduje w podłoże. Faworyzacja zapomocą zabitych bakteryj jest możliwa tylko, gdy je zmieszać z agarem, zawodzi natomiast, gdy pokryć niemi tylko powierzchnię agaru. Ciekawe jest spostrzeżenie, że krew sama nie wystarcza do wyżywienia b. grypowych, bo domieszana do agaru wodnego bez peptonu i wyciągu mięsnego nie umożliwia ich wzrostu, podobnie jak domieszka zabitych bakteryj do takiego agaru. Podobnie *Neisser* hoduje przez szereg pokoleń bakterje na zwykłym agarze w symbiozie z *Corynebact. xerosis* — podczas gdy czyste hodowle zawodzą.

Poszukując za podstawą swoistej własności wzrostowej hemoglobiny, *Davis* (1907) badał inne barwiki zwierzęce o funkcji oddechowej, podobne do hemoglobiny, ale ani hemocyanina, ani hemoerytryna, ani echinochrom nie nadały się do hodowli b. grypowych, podobnie zresztą, jak ciała łatwo odszczepiające tlen drobinowy, jak woda utleniona lub platyna koloidalna, jak wreszcie różne nieorganiczne i organiczne związki żelaza. Na podstawie faktu, że bardzo słabe zgęszczenia hemoglobiny (1 : 200,000) umożliwiają już w pewnych warunkach wzrost, przychodzi D. do przekonania, że chodzi tu o funkcję katalityczną.

Taki stan naszych wiadomości o biologji wzrostowej bakteryj zastała wielka wojna. Wspomniane wyżej pierwsze prace o znaczeniu witamin w mikrobiologji, zwłaszcza zaś wielka nowa pandemja

grypy w r. 1918, stały się potężnym bodźcem do wznowienia badań nad tem ciekawem zagadnieniem. Badania te poszły w trzech kierunkach i wydały bardzo poważne wyniki, choć jeszcze zagadnienia naszego ostatecznie nie rozwiązały. Z jednej strony starano się wyjaśnić związek między barwikiem krwi a wzrostem b. grypowych, z drugiej zaś pójść nową drogą, wskazaną przez badania witaminowe, wreszcie poddano bliższej analizie intrygujące zjawisko „faworyzacji symbiotycznej", niemal unikat w bakterjologji.

W pierwszym kierunku naczelne stanowisko zajmuje praca *Olsena*; do doświadczeń swych użył on 3 różnych szczepów, które nigdy nie rosły na zwykłym agarze. Surowice krwi, jak również wyciąg eterowy z dobrze przemytych krwinek czerwonych, okazały się bezskuteczne — natomiast dały prawidłowy wzrost chemicznie czyste preparaty oksyhemoglobiny i methemoglobiny. Przeciwnie hematyna D (uzyskana przez trawienie pe[illegible]otyczne wedł. *Zeyneka*), hematyna alkaliczna (wedł. *Hamsika*) i hemina [illegible]e umożliwiały wzrostu hodowli czystych, pozwalały natomiast na wzrost [illegible]biotyczny. Ujemne wyniki w jednym i w drugim przypadku dała hemo[illegible]rfiryna i bilirubina, chlorofil i pyrrol. Wyniki te dają już wyraźne [illegible]kazówki co do natury wpływu wzrostowego barwika krwi: wyniki dodatnie daje hemoglobina i izomeryczna z nią methemoglobina, warunkowo dodatnie hematyna, tj. barwik pozbawiony składnika białkowego (globiny), a zawierający żelazo i jego połączenie chlorowe, tj. heminę. Wraz z usunięciem żelaza z drobiny barwika znika działanie jego faworyzujące; to też hematoporfiryna, bilirubina nie dają faworyzacji, podobnie jak chlorofil, blisko spokrewniony z barwikiem krwi (*Nencki*, *Marchlewski* i *Willstätter*) i pyrrol, który jest składnikiem wspólnym barwikom zwierzęcemu i roślinnemu. Zgodnie z tem nie uzyskał O. także wzrostu na agarze z dodatkiem hemocyaniny, tj. barwika krwi mięczaków, zawierającego miedź w połączeniu z ciałem białkowatem, a zatem również pozbawionego żelaza. Roli globiny, tj. białkowego składnika hemoglobiny, O. nie badał; jego brak w hematynie i heminie uwidocznia się potrzebą symbiozy do uzyskania wzrostu b. grypowych — tu jest punkt zaczepny dla drugiego szeregu badań, o których poniżej będzie mowa. Wobec stwierdzonej roli żelaza w funkcji wzrostowej hemoglobiny nasuwały się 3 możliwości: 1) że hemoglobina działa, jako przenośnik tlenu dzięki swej własności luźnego wiązania tlenu i łatwości oddawania go, 2) że hemoglobina jako związek żelazowy jest przyswajana przez b. grypowe podobnie jak niektóre związki żelaza przez bakterje żelaziste (*Crenothrix*), 3) że hemoglobina działa katalitycznie jako peroksydaza. Przeciw pierwszemu przypuszczeniu przemawia po części przytoczone wyżej doświadczenie *Pfeiffera* z hemoglobiną tlenko-węglową, ujemne wyniki z hemocyaniną, również wiążącą luźnie tlen, a nadewszystko dodatni wynik z methemoglobiną, która nie zawiera wcale luźnie związanego tlenu, a tylko mocno związany i takież wyniki z hematyną i heminą. Przeciwko drugiemu przypuszczeniu przemawia nieprawdopodobieństwo przyswajania całej wielkiej drobiny hemoglobiny, jak również brak rozkładu jej przez b. grypowe i ujemne wyniki doświadczeń różnych autorów z solami żelazowemi. Pozostawałaby zatem trzecia możliwość, t. j. funkcja katatyliczna peroksy da-

zowa, przejawiająca się między innemi także w znanych odczynach na krew, tj. gwajakowym i benzydynowym. I rzeczywiście, dokładne porównanie funkcji wzrostowej z zakresem tych odczynów w grupie pochodnych barwika krwi przemawia niedwuznacznie za ścisłym związkiem tych funkcyj, jak o tem przekonywa następujące zestawienie:

ZWIĄZEK	Zdolność luźnego wiązania O	Odczyn gwajakowy wobec H_2O_2	Wzrost b. grypowych	
			w symbiozie	samych
Oksyhemoglobina	+	+	+	+
Methemoglobina .	—	+	+	+
CO-hemoglobina	—	+	+	+
Hematyna		+	+	—
Hemina		+	+	—
Hematoporfiryna	—	—	—	—
Hemocyanina . .	+	—	—	—
Bilirubina . . .	—	—	—	—
Chlorofil	—	—	—	—
Pyrrol	—	—	—	—

Zestawienie to wykazuje z jednej strony, że brak jest równoległości między funkcją wzrostową a zdolnością wiązania tlenu, natomiast istnieje zupełna zgodność między funkcją peroksydazową a wzrostową symbiotyczną. W tym samym duchu przemawiają także następujące spostrzeżenia: agar, używany przez O., okazywał się stale niezdatnym do hodowli b. grypowych, to też wyciąg mięsny, używany do przyrządzania tego agaru, dawał zawsze ujemny odczyn benzydynowy i gwajakowy. Naodwrót, według spostrzeżeń *Davisa*, krew umożliwia wzrost jeszcze aż do rozcieńczenia $^1/_{200.000}$, a właśnie w tem rozcieńczeniu oba odczyny peroksydazowe wypadają jeszcze dodatnio. Słusznie tedy żąda O , aby ci badacze, którzy stwierdzają możność wzrostu na zwykłym agarze bez krwi, upewniali się zapomocą odczynów chemicznych, czy użyty wyciąg mięsny nie zawiera śladów krwi, niewidocznych dla oka. Przy sporządzaniu pożywki wedł. *Levinthala* gotuje się mieszaninę agaru z krwią i przesącza się następnie przez bibułę—czysty

i bezbarwny przesącz, który pozwala na bujny wzrost b. grypowych daje zawsze dodatni odczyn benzydynowy. Jaką rolę w przemianie materji b. grypowych odgrywa funkcja peroksydazowa barwika krwi i jego pochodnych, tego nie udało się *Olsenowi* stwierdzić. Ta sztuczna peroksydaza *Wolffa* (mieszanina Fe So_4 i K_4 Fe Cy_6 w mocnem rozcieńczeniu) nie jest w stanie zastąpić krwi mimo, że daje odczyn benzydynowy. Podczas wzrostu b. grypowych w ustroju zakażonym prawdopodobnie znajdują one wszędzie rozporządzalny barwik krwi, choćby w śladach (np. w płynie mózgo-rdzeniowym), tembardziej że funkcja krwotoczna ich jadów działa w tym samym kierunku.

Przytoczone wyniki znalazły w wielu kierunkach potwierdzenie w późniejszych badaniach *Fildesa*. Podczas trawienia pepsynowego krwi uzyskuje on strąt heminy (chlorowodorku hematyny); ten, użyty sam przez się jako dodatek do agaru, nie umożliwia hodowli b. grypowych, natomiast udaje się ona, gdy ponadto dodać małą ilość przesączu od strątu heminy, nie zawierającego barwika krwi, a bezskutecznego bez heminy. W tym przesączu odgrywają roli wzrostowej składniki surowicy, bo podobne wyniki można uzyskać z przetworami przemytych krwinek czerwonych. Dalsze badania ograniczają *F.* do składnika pierwszego, pochodzącego od barwika krwi. Ilość tego składnika potrzebnego do hodowli jest bardzo mała, bo wystarczy rozcieńczenie $^1/_{50\cdot000}$ — $^1/_{62\ 000}$ i ta okoliczność tłumaczy rzekomo dodatnie wyniki niektórych autorów z podłożami bez krwi. Czysta hemoglobina według *F.* jest niezdatna dla hodowli b. grypowych, podobnie hematoporfiryna, skutecznemi natomiast okazały się methemoglobina i hematyna. Rola tych barwików polega niewątpliwie na zaopatrywaniu b. grypowych w tlen (jak wiadomo są one bardzo wybitnie tlenożądne) — przyczem, albo barwik miałby charakter nadtlenku, łatwo odszczepiającego tlen (co jest nieprawdopodobnem), albo też charakter peroksydazy, wyzwalającej tlen z jakiegoś nadtlenku, zawartego w podłożu. Z taką hipotezą zgadza się fakt, że ani świeża hemoglobina, ani też zhemolizowana nie dają odczynu gwajakowego, dają go zaś pochodne hemoglobiny, umożliwiające wzrost b. grypowych. Dodatek świeżej lub zhemolizowanej krwi do przetworu trawienia pepsynowego hamuje nadto, zarówno odczyn gwajakowy tegoż jak i funkcje wzrostowe. Dalsza zgodność obu funkcyj (wzrostowej i odczynu *in vitro*) objawia się w tem, że z różnych gatunków krwi, krew gołębia jest jedyną, która w stanie świeżym daje odczyn gwajakowy i nadaje się do hodowli. Ujemne wyniki hodowlane ze świeżą hemoglobiną tłómaczą się zapewne wielkiem jej powinowactwem do tlenu, który przez to odciąga ona od tlenożądnych b. grypowych. Przemiany barwika obniżają lub znoszą to powinowactwo i przez to pozwalają się ujawniać funkcji katalitycznej.

Podczas, gdy tym pracom udało się do pewnego stopnia wyjaśnić znaczenie barwika krwi dla wzrostu b. grypowych, inny szereg prac zajął się analizą innych czynników wzrostowych, tutaj dotkniętych tylko ubocznie. Prace *Lloyda* oraz *Colego* i *Lloyda* wprowadziły pojęcie witamin do bakterjologji—już *a priori* bakterje hemoglobinofilne nasuwają się jako przypuszczalnie wdzięczny przedmiot dla doświadczeń w tym kierunku. W roku 1918 *Agulhon* i *Legroux* starają się uzyskać ze krwi ciało o funkcji witaminowej

dla b. grypowych. Strącają oni krew zapomocą 4 objętości wyskoku absolutnego, następnie dygerują strat w równej objętości fizjologicznego rozczynu soli, w ciepłocie pokojowej lub przy 80° C. przez jedną godzinę i oddzielają odeń niemal bezbarwny wyciąg przez odsączenie, odwirowanie lub przesączenie przez filtr *Chamberlanda F.* Praktyczniejszem okazuje się dygerowanie krwi z 4 objętościami rozczynu fizjologicznego przez 15' przy 80° i następowe oddzielenie wyciągu od strątów zapomocą jednej ze wspomnianych metod. Wyciągi takie w zgęszczeniu 5%-em umożliwiają bujną hodowlę naszych bakteryj — 1% dodatku pozwala na słaby wzrost. Ciała witaminowe, uzyskane w ten sposób, pochodzą z krwinek czerwonych, a nie z surowicy; przemywanie krwinek usuwa z nich witaminy, podobnie hemoliza, ogrzewanie i wyciąganie wyskokiem. Wyciągi acetonowe są bezskuteczne. Wyciągnięte witaminy znoszą ogrzewanie do 80°, słabną przy 90° — w agarze słabną dopiero przy 100°, a tracą skuteczność przy 120°. Wodne roztwory znoszą przesączanie przez bibułę lub świeczkę *Chamberlanda F.* Autorzy skłaniają się do przypuszczenia, że te „katalizatory wzrostowe" działają raczej przez swoją konstytucję fizykalną, niż przez swój skład chemiczny. Według nowszej pracy *Legroux* i *Mesnarda* ciała te (podobnie jak witaminy dla zwierząt) są bardzo wrażliwe na działanie śl[illegible] zasad, przechodzą przez błony pergaminowe i kolodjonowe, same przez się nie posiadają wartości odżywczej dla bakteryj. Ich zawartość w surowicy, płynie puchlinowym, łożysku ludzkiem jest nieznaczna, brak ich w mięśniach, pozbawionych krwi, obficiej znajdują się w żółci, wątrobie i nerce. Mieszanina równych części wyciągu wątrobowego z wyciągiem krwinek czerwonych zapewnia bujny bardzo wzrost (osad bakteryj przeszło na 1 cm. wysoki) i żywotność ponad 100 dni. Gdy po tym czasie dodać nieco świeżego wyciągu z wątroby, zahamowany wzrost rozpoczy[illegible] się na nowo; to też autorzy przeczą istnieniu t. zw. samozahamowania wzrostowego na podstawie autotoksyn, a przyjmują tylko wyczerpanie witamin („hormonów wzrostowych") w podłożach. Obecnością tych hormonów tłumaczą oni skuteczność wzrostową dodatku różnych tkanek i soków roślinnych i zwierzęcych, używanych w bakterjologji.

Ważny postęp ku rozwiązaniu naszego zagadnienia stanowią nowsze prace *Davisa* (1917 — 1921). Punktem ich wyjścia było potwierdzone przezeń spostrzeżenie *Ghona* i *Preyssa*, że na agarze z hematyną rosną b. grypowe tylko w obecności innych bakteryj faworyzujących, żywych lub zabitych. Analizując bliżej ten fakt, stwierdził *D.*, że w obecności hemoglobiny i niektórych jej pochodnych, takie działanie pobudzające lub umożliwiające wzrost właściwe jest różnym gatunkom bakteryj, drożdżom, nadto różnym tkankom roślinnym (marchwi, ziemniaka) i zwierzęcym, zwłaszcza, o ile ich nie poddać działaniu wysokiej ciepłoty. Na płytkach agaru z hemoglobiną lub krwią wzrost b. grypowych, skromny zresztą, okazuje się bujnym dokoła obcych kolonij lub włożonych w podłoże kawałków tkanki, stwarzając obłok drobnych, rozsianych kolonijek lub dając kolonje olbrzymy (t. z. objaw satelityzmu). Na agarze z hematyną otrzymuje on typowe zjawisko synergetyczne umożliwienia wzrostu przez dwie substancje, które same przez się nie mogą umożliwić wzrostu, t. j. przez hematynę

z jednej strony a bakterje, drożdże lub tkanki roślinne lub zwierzęce z drugiej. Podobne powstają stosunki na agarze z krwią autoklawowaną, na którym b. grypowe nie rosną, o ile nie dodać wyżej wymienionych dodatków. Wyniki są bardziej przekonywujące z tkankami roślinnemi i ich wyciągami, bo te nie zawierają hemoglobiny. Z tkanek zwierzęcych okazały się skutecznemi mięsień sercowy, wątroba, śledziona, mózg, nerka z różnych gatunków zwierząt, podobnie różne gatunki bakteryj, drożdży, pleśni, sporotrichon i t. p., w postaci zawiesin i wyciągów. Ciała, zawarte w tkankach, bakterjach, drożdżach są rozpuszczalne w wodzie i ciepłochwiejne — ogrzewanie osłabia ich swoiste własności wzrostowe, autoklawowanie przez pół godziny niszczy je zupełnie. Inaczej zachowuje się czynnik wzrostowy zawarty, we krwi. Funkcja wzrostowa krwi nieogrzanej lub hemoglobiny krystalizowanej jest słaba, dobre wyniki daje krew ogrzewana przez 5 godzin do 60° lub przez 5 minut do 100°; krew autoklawowana, jak wspomniane było wyżej, jest nieżdatna (już po kilku minutach przy 120°). Do uczynnienia krwi autoklawowanej nadaje się, obok tkanek, bakteryj i drożdży, także surowica (sama [illegible]z się nieczynna) przez zawartość ciała ciepłochwiejnego, ginącego pod[illegible] autoklawowania Ciało, zawarte we krwi, zdaje się być identyczne z he[illegible]ą lub heminą—stąd słaba skuteczność krwi świeżej, zawierającej mało tych domieszek, a dobra krwi ogrzanej, w której przez ogrzanie powstały te ciała. Bezskuteczność krwi autoklawowanej polega na zniszczeniu drugiego ciała ciepłochwiejnego, zawartego w krwinkach i w surowicy (które można zastąpić przez tkanki lub drobnoustroje) o funkcjach witaminowych („*growth or food accessory factors*"). Przemiana hemoglobiny w ciało wzrostowe (heminę) odbywa się też przy bakteryjnym jej rozkładzie, wzgl. gniciu — dalej posunięte gnicie niszczy jednak ciało witaminowe tak, że mocno zgniła krew wymaga dodatku tkanek lub surowicy, celem umożliwienia hodowli.

Do podobnych wniosków dochodzą niemal współcześnie, a na odmiennej nieco drodze, *Thjötta* i *Thjötta* i *Avery* (1921). *T.* stwierdza, że w buljonie zwykłym, z dodatkiem zabitych (przez ogrzewanie do 60°) bakteryj z grupy otoczkowców lub odmieńca, mogą rość b. grypowe, przeszczepione z agaru z krwią i to nawet przez kilka (do 10) pokoleń. Wzrost związany jest z obecnością bakteryj i staje się najbujniejszy w ich bezpośredniem sąsiedztwie — szczególnie korzystny dla wzrostu jest śluz otoczkowców, wskutek zawartości węglowodanów. Skuteczne są również wyciągi z tych bakteryj wolne od ciał bakteryjnych. Już małe ilości ($^1/_{100}$ hodowli agarowej na 5 cm³ buljonu) wystarczają do umożliwienia wzrostu, który przy większych ilościach jest bujniejszy, niż na podłożach z krwią. Idąc o krok dalej, *T.* i *A.* zastosowali, na podstawie badań *Wildiersa* i *Amanda*, wyciągi z drożdży piwnych, pomidorów, groszku zielonego i fasoli. Dodatek tych wyciągów do zwykłego buljonu umożliwia bujny wzrost b. grypowych przy zasiewach, pochodzących z buljonu z krwią, a są one skuteczne jeszcze w rozcieńczeniach $^1/_{100}$ do $^1/_{1000}$. Bardzo mała zawartość ciał białkowych (w wyciągu drożdżowym 0.14% związków azotowych) nie pozwala przypisywać wyciągom bezpośredniej funkcji odżywczej. Za charakterem witaminowym ciał, skutecznych w wyciągach, przemawiają i inne ich własności: wytrzymują

one 10 minutowe gotowanie, natomiast giną przez autoklawowanie, przechodzą przez świeczki *Berkefelda* bez większej szkody, ulegają adsorbcji (przychłanianiu) przez węgiel zwierzęcy. Bardzo ważny jest fakt, że wzrost w buljonie, z dodatkiem tych wyciągów, możliwy jest tylko przy przeszczepieniu bezpośredniem z buljonu z krwią — przeszczepianie z buljonu z wyciągami na to samo podłoże albo okazuje się niemożliwem, albo też serja urywa się po drugim pasażu (przeszczepie). Widocznie zatem do wzrostu b. grypowych potrzeba dwuch ciał wzrostowych synergetycznych, które autorzy oznaczają symbolami *v* („*vitamin-like*" — ciało wyciągowe) i *x* (ciało zawarte we krwi) — brak drugiego ciała wzgl. wyczerpanie się szczupłego zapasu, przeniesionego z pierwotnej hodowli w buljonie krwawym, powoduje przerywanie się serji. Za tem przemawia spostrzeżenie, że niepodobna uzyskać wzrostu w buljonie z wyciągiem, o ile do zasiewu użyć bakteryj z buljonu krwawego, przemytych trzykrotnie roztworem soli. We krwi zawarte są oba ciała i wytrzymują w niej 10 minutowe ogrzewanie do 100° — natomiast krew autoklawowana pół godziny do 115° jest bezskuteczna wskutek zniszczenia ciała *v*, może jednak uzyskać skuteczność przez dodatek tego ciała w postaci wyciągów. Specjalne doświadczenia miały na celu wykazanie, w jakich zgęszczeniach ciała *x* i *v* znajdują się we krwi i w jej pochodnych. Do buljonu zwykłego, z dodatkiem różnych ilości krwi i jej pochodnych, szczepiono b. grypowe z hodowli w buljonie wyciągowym (zatem nie zawierającym nadmiaru *x*); dla kontroli — do takiego samego podłoża z dodatkiem wyciągu drożdżowego (sam wyciąg jest bezskuteczny w 10%-ym roztworze!).

Znak + oznacza wzrost, — brak wzrostu, cyfry obok tych znaków oznaczają dzielniki rozcieńczeń (zatem 100 oznacza najniższe skuteczne zgęszczczenie $^1/_{100}$):

Płyn puchlinowy: . . .	bez wyciągu	—2	z wyciągiem	+5
Surowica ludzka: . . .	„	—10	„	+1000
Wyciąg ze krwi: . . .	„	+100	„	+1000
Roztwór krwinek rozpuszczonych (10% Hb): .	„	+1000	„	+100.000
Roztwór Hb Krystal. 10%:	„	—10	„	+200.000

Widzimy stąd, że *x* zawarty jest we krwi a przedewszystkiem w krwinkach czerwonych w wielkiem zgęszczeniu; skuteczność roztworu krwinek wzgl. hemoglobiny, obliczana na zawartość czystej hemoglobiny, wynosi $^1/_{1\cdot000\cdot000}$ wzgl. $^1/_{2\cdot000\cdot000}$ zawartości w surowicy i w płynie puchlinowym jest bardzo skromna. Czynnik *v* zawarty jest również przedewszystkiem w krwinkach czerwonych — ale potrzebny jest widocznie do wzrostu w większej ilości niż czynnik *x*, stąd nizkie cyfry pierwszej kolumny wzgl. wyniki ujemne. Wielka wrażliwość tego czynnika uwidocznia się w fakcie, że skuteczność jego ginie przy procesie krystalizacji hemoglobiny, choć roztwór krwinek zawiera go względnie dużo. Skuteczność czynnika *x* jeszcze w bardzo mocnych rozcieńczeniach pozwala przypuszczać, że funkcja jego jest katalityczną.

Zasadniczo ważne zdobycze przynosi wreszcie ostatnia praca tych samych autorów. Co do czynnika *x*, stwierdzają obecnie, że ma on cały szereg własności wspólnych z ciałem, dającem odczyny peroksydaz, a zwłaszcza odczyn benzydynowy: podobnie jak ono, jest ciepłostały, wskutek czego węgiel zwierzęcy daje odczyn benzydynowy i umożliwia wzrost b. grypowych w buljonie z wyciągiem drożdżowym. Z roztworów hemoglobiny krystalicznej można zapomocą węgla zwierzęcego usunąć jedno i drugie ciało (wzgl. funkcję) — obładowany węgiel daje odczyn benzydynowy i wzrostowy. Inne ciała białkowate pochodzenia zwierzęcego, jak owalbumina, pepton, erepton i ich pochodne, wyciągi lipoidalne z narządów, nie zawierają czynnika *x*. Natomiast owocniejszem okazało się poszukiwanie obu czynników w tkankach roślinnych. Widzieliśmy już wyżej, że stanowią one obfite źródło czynnika *v*. Co do czynnika *x*, wiadomo było, że działa on najprawdopodobniej katalitycznie, jako peroksydaza — skierowano tedy poszukiwania przedewszystkiem ku przedmiotom znanym z zawartości peroksydaz, mianowicie ku ziemniakom.

Doświadczenia te dały ważny a niespodziewany wynik, że w zwyczajnym buljonie, w którym pogrążone są kawałki surowego, jałowego ziemniaka, b. grypowe rosną bujnie i to w głębi podłoża, dokoła ziemniaka, niezgodnie z wybitnie zresztą zaznaczoną swoją naturą tlenożądną. Jeżeli ziemniak ogrzewać w autoklawie przez 45 minut do 120°, funkcja wzrostowa znika, może jednak być przywrócona przez dodatek wyciągu drożdżowego. Znaczy to, że ziemniak, podobnie jak krwinki czerwone, zawiera oba czynniki wzrostowe *v* i *x* — gdy przez ogrzanie zniszczyć pierwszy, to jeszcze można uczynnić pozostały czynnik *x* przez dodanie czynnika *v* w postaci wyciągu drożdżowego lub roślinnego. Aby doświadczeniom tym nadać większej siły dowodowej, nadewszystko zaś, aby usunąć ostatnie możliwe ślady czynnika *x*, które mogłyby być zawarte w buljonie (wzgl. w wyciągu mięsnym, użytym do jego sporządzenia), autorowie użyli podłoża, nie zawierającego zupełnie, ani pochodnych krwi, ani ciał wyciągowych lub peptonów zwierzęcych, a mianowicie syntetycznego podłoża *Uszyńskiego* albo też zwykłego roztworu buforowego fosforanów, sodowego i potasowego (M/15, p H 7,5). W pożywkach takich mogą rość b. grypowe, o ile do nich dodać kawałek ziemniaka — okazuje się zatem, że białko i węglowodany ziemniaka łącznie z zawartemi w nim czynnikami *v* i *x* mogą w zupełności zastąpić skomplikowane podłoża krwawe. Podobnie, jak ziemniak, zachowuje się pod tym względem banan (choć zawiera tylko katalazę, a nie daje odczynu benzydynowego!) Nie potrzeba chyba specjalnie podkreślać zasadniczego znaczenia tego odkrycia, które, analizując zagadkowe dotąd zjawisko „hemoglobinofilji", sprowadza je do czynników prostszych i dostępniejszych badaniu, a nadewszystko ułatwia niesłychanie hodowlę tych wybrednych bakteryj.

W uzupełnieniu tych danych wspomnę jeszcze o pracy *Riversa* i *Poole'a*, którzy również dochodzą do wniosku, że b. grypowe wymagają do wzrostu dwuch ciał, jednego ciepłostałego, drugiego ciepłochwiejnego. Jedno z nich znajdują w wyciągu ze skrzepu krwi autoklawowanego (= *x* powyższych autorów), drugie w przesączonym wyciągu drożdzowym (= *v*), każde samo dla siebie nieczynne. W poszukiwaniu za ciałem *x* użył *Rivers*

jaja kurzego, opierając się na wyżej wzmiankowanych doświadczeniach z hematogenem Hommla. Do 250 cm³ 2%-ego roztworu peptonu *Fairchila* (p H 7,6) dodaje on 3 jaja świeże, gotuje przez jedną minutę, przesącza przez watę, autoklawuje przez kwadrans, poczem ewentualnie rozbija duży osad powstały w płynie. Na 100 cm³ dodaje 10—20 cm³ wyciągu drożdżowego, rozlewa pożywkę do próbówek po 10 cm³. W pożywce tej rosną b. grypowe, zasiane z agaru krwawego, dość bujnie, dalsze przesiewy serjami udają się poza 15 pokoleń, wzrost jednak jest słabszy. Pepton, zawarty w pożywce, nie jest źródłem ciała *x*, bo w wodzie peptonowej (bez jaja) z dodatkiem wyciągu drożdżowego, nie uzyskuje się wzrostu. Można zresztą otrzymać także wzrost na podłożu bez peptonu, ale z jajem i wyciągiem drożdż...ym o następującym składzie: Gliceryny 30·0, NaCl 5·0, $CaCl_2$ 0·1, $MgSO_4$ 0·2, K_2HPO_4 2·0, Ammon. lact. 12 0, Asparaginy 0·5, Tryptofanu 2·5, Wody 1000·0, PH 7·4.

Wątpliwemi natomiast wydają się, w oświetleniu nauki o witaminach, przypuszczenia, wypowiedziane przez *Tocunaga*: według niego b. grypow. żywią się na podłożach z hemoglobiną białkową jej częścią, tj. globiną i d tego też wzrost ma być lepszy na agarze z krwią ogrzaną z alkaljami, r agarze z hemoglobiną nieogrzaną, bo przytem następuje rozkład hemo na hematynę i globinę. Przystosowanie się do globiny ma obniżać wrażliwość b. grypowych na kwasy i zasady i umożliwiać po pewnym czasie wzrost na agarze surowiczym. Przeczą tym poglądom *Jacoby* i Pna *Frankenthalówna*: nie uzyskali oni bowiem wzrostu na agarze z hematyną lub globiną, natomiast słaby wzrost na agarze z 1 — 2‰ histydyny lub 3 — 6‰ leucyny (t. j. aminokwasów pochodzących z globiny).

VI.

Wypada nam jeszcze rozważyć trzecie z zagadnień, poruszonych we wstępie, mianowicie czy pewne gatunki bakteryj mogą wytwarzać witaminy, pobudzające wzrost innych gatunków. Wspomniane już wyżej, a odkryte w r. 1897 przez *Grossbergera* zjawisko faworyzacji wzrostowej, daje potwierdzającą odpowiedź na to pytanie, o ile się uda stwierdzić, że podstawą tego zjawiska, jedynego zresztą dotąd w bakterjologji, są pewne wytwory bakteryj a nie sprawy bezpośrednio związane z życiem bakteryj i od niego nieodłączne. Ze względu na ważność ogólnobiologiczną tego zjawiska, jak również celem wykończenia skreślonego wyżej obrazu fizjologji wzrostowej b. grypowych, warto będzie bliżej się z nim zapoznać. Z góry musimy stwierdzić, że nie chodzi tu, jakby się na pierwszy rzut oka zdawać mogło, o fakt współżycia (symbiozy) z tego powodu, że korzyść z wspólnoty wzrostowej wynikająca jest w tym wypadku ściśle jednostronna. Możnaby raczej myśleć o stosunku pasorzytniczym (o ile chodzi o wydzielinę żywych bakteryj obcych) albo też o wypadku sprzężenia warunków życiowych, których liczne przykłady znane są, jako następstwo różnych faz spraw rozkładowych, związane z następstwem różnych gatunków roztoczy, których jedne stwarzają warunki rozwojowe dla następujących. Według *Riversa* i *Poole'a* objaw

satelityzmu polega na jednym z następujących czynników lub na kombinacji kilku z nich: a) mogłyby gatunki faworyzujące unieczynniać ciała hamujące, zawarte w niektórych rodzajach krwi (ludzkiej, kurzej), b) mogłyby zmieniać (H·) na korzystniejszą dla b. grypowych, c) mogłyby przez rozkład krwi czynić ją lepiej przyswajalną dla naszych bakteryj, d) wreszcie mogłyby umożliwiać ich wzrost przez wytwarzanie witamin.

Faworyzacja, opisana przez *Grassbergera*, dotyczyła kolonij gronkowca złocistego, *Allen* stwierdził ją dla różnych bakteryj, znajdowanych w plwocinach grypowych, dla pneumokoków, *B. Coli, B. acidi lactici, Micr. paratetragenus, Cantani* jako też *Luerssen* dla gronkowców, gonokoków, b. błoniczych, durowych, *v. cholerae, v. Metchnikovi, B. prodigiosum, Neisser* dla *Corynebact. xerosis. Wolf* uzyskał wybitną faworyzację przez *Microc. catarrhalis i flavus*, wyraźną przez paciorkowce, pneumokoki, gronkowce, meningokoki i b. błonicze, słabą przez gonokoki, b. durowe, rzekomodurowe, czerwonkowe, żadnej przez *B. pyocyaneum* i *Bac. subtilis* (te dwa [illegible] tunki działają nawet hamująco). Spostrzeżenia *Grassbergera, Cantani, Ghona i Preyssa, Allena, Thjötty* i innych autorów, którzy uzyskali [illegible] wyzację przez dodatek zabitych bakteryj lub ich wyciągów, dowodzi [illegible] znacznie, że nie chodzi tu o jakąś funkcję witalną gatunków faworyzujących. Ważne dla oceny zjawiska jest pytanie, czy ten objaw „satelityzmu“ (nazwa podana przez *Meuniera* w r. 1898), podobnie jak wzrost czystych hodowli, uwarunkowany jest obecnością hemoglobiny i jej pochodnych, czy też w obecności bakteryj faworyzujących zmniejszają się wymagania odżywcze naszych bakteryj. Według *Grassbergera* w obecności gronkowców możliwy jest wzrost tylko na podłożach z hemoglobiną, methemoglobiną i hematyną; podobne wyniki uzyskali *Ghon i Preyss. Olsen, Putnam i Gay* badali 16 szczepów b. grypowych w symbiozie *z Corynebact. xerosis, Corynebact. diphtheriae* (4 szczepy), *B. Coli, M. pyogenes* (2 szczepy), *Streptoc. lanceolatus* (3 szczepy) — ale uzyskali również wzrost wyłącznie w obecności hemoglobiny lub jej pochodnych — najróżniejsze inne dodatki do agaru okazały się bezskuteczne. W przeciwieństwie do tych autorów, *Cantani, Luersen i Neisser* twierdzili, że obecność gatunków faworyzujących umożliwia wzrost na podłożach bez krwi— ostatni nawet hodował b. grypowe razem z *Corynebact. xerosis* przez 30 pokoleń na zwykłym agarze. Dodatnie wyniki z hodowlami symbiotycznemi na agarze bez krwi miał *Wolf*. Na agarze z płynem puchlinowym, z pośród wyżej wymienionych gatunków, umożliwiały wzrost b. grypowych (w czystej hodowli niemożliwy) *microc. catarrhalis i flavus*, gronkowce i meningokoki, na agarze peptonowym zwykłym i glicerynowym tylko dwa pierwsze gatunki, natomiast na surowicy *Loefflerowskiej* wszelkie kombinacje zawodziły. Hodowle bakteryj faworyzujących, zabite przy 100° (10—15'), dawały zawsze wyniki ujemne, hodowle zabite przy 60° (3 godz.), domieszane do agaru glicerynowego, pozwalały na skromny nieco wzrost b. grypowych (wyniki dodatnie z *Microc. catarrhalis i flavus*, gronkowcami, paciorkowcami i meningokokami).

Wreszcie najnowsza praca *Kalkbrennera* (z instytutu Pfeifferowskiego) poświęcona jest temu samemu zagadnieniu. Autor ten potwier-

dził przedewszystkiem spostrzeżenia *Ghona i Preysa* jako też *Olsena*, że b. grypowe w czystej hodowli rosną na agarze z hemoglobiną lub methemoglobiną, w mieszanej nadto na agarze z hematyną lub heminą — nie rosną zupełnie na podłożu z hematoporfiryną. Stwierdziwszy objaw satelityzmu w symbiozie z różnemi drobnoustrojami (drożdżami różowemi, *Sarcina lutea, M. pyogenes aureus i albus, Streptococcus longus, Micrcatarrhalis, Diploc. intracellularis, B. prodigiosum, B. violaceum, B. pyocyaneum, B. fluorescens, B. pneumoniae, B. typhi, B. paratyphi, B. dysenteriae Shiga, Flexner, Y, B. coli, B. vulgare, X_{19}, B. acidi lactici, Corynebact. diphtheriae, Bac. anthracis, Bac. mycoides, Bac. mesentericus, Bac. subtilis*) starał się uzyskać symbiozę w warunkach, któreby pozwoliły wykluczyć obecność barwika krwi i jego pochodnych. W tym celu przeprowadzał doświadczenia nietylko na agarze, sporządzonym na wyciągu mięsnym (który zawsze może zawierać ślady hemoglobiny lub jej pochodnych), ale także na agarze wodnym, zawierającym 1% nutrozy, 1% peptonu *Witte* obok 0,5% NaCl. Na takim to agarze udało mu się uzyskać mierny wzrost delikatnych kolonij b. grypowych w sąsiedztwie obcych kolonij i stale z *B. typhi, B. paratyphi B, B. coli, B. dysenteriae Flexner, pneumoniae*, stale z *B. dysenteriae Shiga i Corynebact. diphtheriae*. Materjał b. grypowych pochodził z agaru Levinthalowskiego, a był [illegible] w roczynie fizjologicznym celem wykluczenia śladów barwi[illegible]. Bakterje błonicze, zabite chloroformem lub przez ogrzewanie do 60° C. okazały się równie skutecznemi, jak żywe; ogrzanie do 90° o. D. 100° niszczy ich skuteczność. Wyciąg wyskokowy tych bakteryj wiony jest własności wzrostowych, które są związane z ciałami nemi. Uderza bądź co bądź, że w tych wypadkach nie udało się serjami po za 3—4 pokoleń (może jednak tu skuteczne były ślady z zasiewu, szybko się wyczerpujące, bo minimalne?). Istotę d faworyzującego upatruje K. w pewnych, swoistych ciałach białkobakteryjnych, zdolnych do zastąpienia hemoglobiny, a nie dający zastąpić nawet większemi ilościami innych ciał białkowatych, zawa[illegible]ch np. w surowicy lub w płynie puchlinowym; może i pepton zawarty w użytych podłożach odgrywa tu pewną rolę odżywczą (domieszka pochodnych hemoglobiny?).

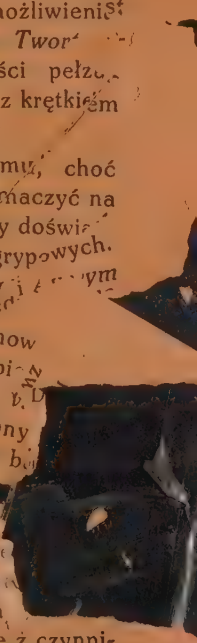
Bardzo gruntowną analizę zjawiska satelityzmu przynoszą pracę *Davisa*. Stwierdza on przedewszystkiem ciekawy fakt, że w podłożach płynnych zaciera się to zjawisko, ponieważ wybitniej, niż na podłożach stałych, wchodzi tu w grę konkurencyjne działanie obcego gatunku, zwykle obdarzonego większą energją wzrostową, niż b. grypowe. W hodowlach płynnych, mieszanych z paciorkowcami lub b. rzekomobłoniczemi, giną b. grypowe po kilku pokoleniach, z gronkowcami już w drugiem pokoleniu. Na agarze zwykłym uzyskał D. wzrost w obecności b. rzekomobłoniczych przez 7 pokoleń, zauważa jednak słusznie, że siłę dowodową tego spostrzeżenia osłabia fakt, że pierwszy zasiew pochodzi z podłoża z krwią, a wobec minimalnej ilości hemoglobiny, potrzebnej do wzrostu, już ten ślad nawet, przy następowem rozcieńczeniu w dalszych pokoleniach, może wystarczyć. Zakres działania faworyzujący,

dokoła obcych kolonij na płytkach, zwykle jest kolisty o średnicy 1 — 10 mm. Jako gatunki faworyzujące, wylicza *D.*: gronkowce złociste i białe, *Streptococcus haemolyticus i viridans, pneumokoki, meningokoki Micr. catarrhalis, Corynebact. diphtheriae, pseudodiphthericum* i in., *Sarcina lutea, B. coli, B. typhi, B. paratyphi A* i *B, B. dysenteriae, B. pneumoniae, B. enteritidis, B. alcaligenes, B. pyocyaneum, B. prodigiosum, B. sporogenes, V. Metchnikowi,* gonokoki, 15 różnych gatunków bakteryj powietrznych, różne gatunki z plwocin. Ujemne wyniki dała tylko pewna laseczka z grupy las. siennych, mocno hamująca wzrost b. grypowych, nadto pewne gatunki, zbyt powoli rosnące w stosunku do naszych bakteryj, jak niektóre drożdże, b. gruźlicze, drożdżaki chorobotwórcze, *Sporotrichum, Ac[illegible] quinkeamum* i t. p. Faworyzacja jest niezależna od funkcji he[illegible] m[illegible] zabitych gatunków, ani od rodzaju krwi użytej. Wyżej wspo[illegible] m[illegible] rze z k[illegible] faworyzacji może być uzyskany na agarze z dodatkiem dur[illegible] stowy p[illegible] — te natomiast masę zabitych bakterji położyć na aga[illegible] w tu[illegible] teryj[illegible] wzrostowego. Widocznie tedy czynnik wzro[illegible] ro, [illegible] swój wpływ lub z[illegible]yjącej kolonji do podłoża, nie zaś z zabitych bak[illegible]wyzacj muszą być ściśle zmieszane z podłożem, jeśli mają ujawnić [illegible]rnacz. Podobnie, jak obce kolonje, działają rozmaite świeże tkanki ryz[illegible]nnych. Wwierzęce, których kawałki składa się na płytkach agaru tyznwią: ogrzanie tkanek w autoklawie niszczy tę własność. Różne ciała stymiczne, nie wykluczając organicznych i nieorganicznych związków żenya, nie mogą zastąpić bakteryj faworyzyjących. Szczególnie dobrze gandacznia się objaw satelityzmu z obcemi kolonjami lub tkankami zwie-grocemi i roślinnemi na agarze z krwią autoklawowaną, który sam przez się her niezdatny dla wzrostu b. grypowych. Skuteczność obcych bakteryj *Putrug D.* ma polegać: a) na wytwarzaniu ciał ciepłochwiejnych o charakte-*ne*witaminowym, b) na przemianie hemoglobiny w hematynę, która bar-(2 [illegible]j sprzyja wzrostowi b. grypowych, niż czysta hemoglobina.

wzl W dalszej pracy *Davis* przedstawia znaczenie satelityzmu dla klasyfikacji krwiożądnych (hemofilnych) bakteryj. Stwierdza przedewszystkiem, że wśród kilkuset szczepów b. grypowych, pochodzących z różnych źródeł, nie znalazł ani jednego, któryby nie dawał objawu satellityzmu. Powtóre, że b. grypowe nie działają faworyzująco na własny wzrost, wzgl. na wzrost innych szczepów tego samego gatunku, nawet pochodzących z odmiennego materjału zakaźnego lub różniących się własnościami biochemicznemi (np. co do wytwarzania indolu) lub serologicznemi (zlepność, zjadliwość). Ciekawe jest natomiast zachowanie się innych członków grupy bakteryj krwiożądnych; 3 szczepy *B pertussis*, 1 *B. duplex Morax-Axenfeld*, 1 *B. ulceris cancrosi Ducrey — Unna* okazały się faworyzującemi wobec b. grypowych, natomiast same niedostępne są faworyzacji przez bakterje obce. Zatem b. grypowe bardzo wybitnie się różnią biologicznie od innych członków tej grupy, których krwiożądność zresztą jest mniej ścisła, niż b. grypowych. Tylko kilka szczepów *B. aegyptiacum Koch-Weeks* zachowało się podobnie jak b. grypowe, t. j nie objawiało faworyzacji wobec b. grypowych, a doznawało jej w obecności kolonij gronkowców i paciorkowców, tak że *D.* skłonny jest uznać ich przynależność do b. grypowych. Pny *Williams*

i *Povitzky*, badając zjawisko satellityzmu, hodowały b. grypowe na wyciągach z pszenicy (bez wszelkich dodatków zwierzęcych celem wykluczenia domieszki krwi!). Uzyskały one wzrost w całym szeregu pokoleń w obecności gronkowców, paciorkowców krwiobójczych, dwoinek wiewiórowych, b. błoniczych, Monilia lub świeżych tkanek roślinnych. Dodatek bakteryj, zabitych przez ogrzewanie do 100° ponad 10 minut, nie umożliwia wzrostu; podobnie i tkanki roślinne tracą skuteczność przez ogrzewanie. Autorki przypuszczają, że ciepłostały czynnik X (katalityczny) nie zawsze jest obecny w żywych bakterjach i tkankach roślinnych, i że w pewnych przypadkach sam ciepłochwiejny czynnik V (witaminowy) wystarcza do umożliwienia wzrostu b. grypowych. Wreszcie, wypada wspomnieć o pracy *Twor*[illegible] którzy uzyskali wzrost b. grypowych na agarze z krwią w obecności pełzaków (i przedłużenie żywotności), nadto na agarze bez krwi z krętkiem z nastoju siennego lub laseczką ziemną.

Ogół przedstawionych badań nad zjawiskami satellityzmu, choć sprzecznych w niektórych szczegółach, najłatwiej się da wytłómaczyć na podstawie poglądów, do których większość badaczy doprowadziły doświa[illegible]czenia nad mechanizmem wzrostowym czystych hodowli b. grypowych. O ile wraz z *Ghonem* i *Preysem*, *Davisem*, *Olsenem*, *Thiötta* i [illegible] przyjmiemy, że do wzrostu ich potrzeba współdziałania dw[illegible] ych jedno zawarte jest w barwiku krwi i jego pochod[illegible] ch), drugie również w krwinkach czerwonych, w różn[illegible] ych i zwierzęcych, a także w różnych bakterjach, d[illegible] ach, sprawa satellityzmu wchodzi w zakres zjawisk [illegible] luje (tymczasowo przynajmniej) wystarczające [illegible] yniki z pożywkami bez krwi mogą być wyjaśn[illegible] iesłychaną skuteczność czynnika katalitycznego, zawarte[illegible] yniki *Davisa*, *Olsena*). Minimalne ślady, uchodzące oku a nawe[illegible] pektorskopowemu, a wykrywalne ewentualnie zapomocą odczynu[illegible] cwego, mogą być zawarte w wyciągu mięsnym. Niewystarcza[illegible] zez się, mogą one umożliwić wzrost naszych bakteryj, łącznie z czynnikiem witaminowym ciepłochwiejnym z bakteryj faworyzujących.



VII.

W omówionych dotąd badaniach zagadnienie „krwiożądności" b. grypowych znalazło swe wytłómaczenie — może jeszcze niezupełne co do swego mechanizmu. Wobec ważności biologicznej tego klasycznego przykładu specjalizacji wymagań odżywczych, warto poświęcić kilka uwag także biologicznej stronie omawianego zespołu zjawisk. Zespół ten niewątpliwie musimy sobie wyobrażać, jako wynik długotrwałego przystosowania do warunków życia pasorzytniczego w ustrojach zakażonych. Być może, że zgodnie z hipotezą *Olsena* działanie jadów b. grypowych, powodując objawy powotoczne, stwarza dla naszych bakteryj podatne podłoże na błonach śluzowych czy w obrębie tkanek. Minimalne ilości barwika krwi wzgl. jego pochodnych, potrzebne do ich wzrostu, nie trudno się znajdą w ustroju za-

każonym. Ponadto b. grypowe znajdą tam też łatwo drugi czynnik, ułatwiający wzgl. umożliwiający im wzrost, t. j. bakterje obce, jako mnogą i różnorodną florę wtórnych (?) zakażeń, tak często spotykaną w sprawach grypowych. Jak wszystkie podobne przystosowania, tak i to okazuje obszerną skalę jakościową i ilościową. Znamy bakterje chorobotwórcze, które często, przebywając poza ustrojem, a przygodnie tylko we wnętrzu ustroju, zadowalają się podłożami zwyczajnemi (choć i te przeważnie zawierają składniki ustrojów zwierzęcych lub ich pochodne). Ale nawet las. nich przystosowanie do życia pasorzytniczego przejawia się w tem, że na pewne specjalne właściwości fazy pasorzytniczej ujawniają się tylko ja w obecności surowic lub krwi (otoczkowanie las. wąglikowych, t. z. „bakterje zwierzęce“ *Baila*). Wiele gatunków z pośród nich, choć rośnie na podłożach zwykłych, rozmnaża się bujniej i szybciej wobec surowic, wobec krwi lub tkanek zwierzęcych. Są dalej takie, które prawie że wyłącznie w tych warunkach mogą się rozmnażać—wzgl. potrzebują dłuższego przystosowania, aby mogły rość na zwykłych podłożach, a i w tym okresie jeszwzrost będzie bujniejszy, gdy im dodamy krwi lub surowicy (pneumo- zapalenia, meningokoki, gonokoki i in.). Wreszcie bakterje krwiożądne przedstawiają najwyższy typ przystosowania, najskrajniejszą wybredność ryżujne' ... wier.

tyzmią: ogrzanie tkatrzenie się w tej grupie bakteryj okazuje jednak i pośród stymiczne, nie wyklud różnych szczepów b. grypowych, pewną różnorodność, nya, nie mogą zastąpm różnych etapów przystosowania. Dane z literatury gandacznia się objaw sza tem, że bezwzględna krwiożądność, uważana dogrozemi i roślinnemi na agystyczną i obowiązkową u b. grypowych, nie zawsze her niezdatny dla wzrostcią, że pewne szczepy mają ew. po dłuższym po- *Putrug D.* ma polzach pracownianych obniżone w tym kierunku wymagania *net*witamin może niesłusznie zacieśniamy granice tego gatunku, z góry narzu- (2 ;j sprzyj jako obowiązek tę wyłączność odżywczą. Być może, że pewne wz W dały, rozbieżne w doświadczeniach różnych autorów, tłómaczą się właśnie odmiennemi właściwościami szczepowemi. Bądź co bądź jednak względnie jednolicie przedstawiają się co do swych badań wzrostowych b. grypowe i bakterje krwiożądne, wywołujące zapalenie opon mózgo-rdzeniowych (*Cohen, Carini, Bujak, Rivers, Rivers i Kohn* i in.), niewiadomo, czy będące odrębnym gatunkiem, czy też tylko odmianą o wyspecjalizowanej funkcji chorobotwórczej i antygenowej. Do b. grypowych w tym względzie najbardziej się zbliżają *B. ulceris cancrosi* (*Ducrey—Unna*), które wszyscy autorzy uważają za ściśle krwiożądne; tylko *Serra* opisuje powolne przystosowanie do wzrostu bez krwi, czemu *Stein* stanowczo przeczy. *B. aegyptiacum Koch—Weeks* zbliża się, co do własności wzrostowych, do b. grypowych, o ile z niemi nie jest identyczne (*Rymowicz*). *B. aeg.* jest ściśle krwiożądne i okazuje objaw satellityzmu, zwłaszcza wobec *Corynebact. xerosis*. Dwa blisko pokrewne gatunki, również z zapaleń spojówek, opisane przez *Mc Kee'a* i *Müllera* (*Bac. Trachomatis*), rosną i bez krwi. Znacznie mniejszy stopień wyłączności odżywczej objawia *B. pertussis Bordet—Gengou*; normalną jego pożywkę stanowi agar wodny bez peptonu na soku ziemniaczanym z dodatkiem krwi, rośnie jednak także na agarze su-

rowiczym, agarze glicerynowym, a nawet na żelatynie i stosunkowo łatwo przyzwyczaja się do wzrostu bez krwi (*Scheller, Klimenko, Finizio*). Natomiast trzy inne gatunki, uważane przez odkrywców również za zarazek kokluszu, zachowują się odmiennie: *Bac. pertussis Eppendorf Jochmanna* i *Krausego* ma być ściśle krwiożądnym i nie daje się odzwyczaić od krwi, podczas gdy *Coccobac. pertussis Vincenzi'ego* od początku ma rość na podłożach bez krwi, podobnie jak *Bac., minutissimus sputi Luzzato'a*. Dwa gatunki, wyosobnione z psa: *Bact. haemoglobino-phílus canis Friedbergera* i *Bact. septicaemiae canis Paranhos'a* są ściśle krwiożądne, natomiast *Rivers* donosi w ostatnim czasie o szczepie, który odpowiada *Friedbergerowskiemu*, a który rośnie na agarze z krwią lub zautoklawowaną hematyną, natomiast nie rośnie na agarze z 2% peptonu lub takimże agarze z dodatkiem wyciągu drożdżowego. Jest to zatem ciekawy gatunek, który do swego wzrostu potrzebuje tylko katalitycznego ciepłostałego czynnika X, nie zaś ciepłochwiejnego witaminowego czynnika V. Ciekawą jest również *Bact. septicaemiae anserum exsudativae*; szczep oryginalny, opisany przez *Riemera*, nie okazywał krwiożądności, natomiast wyosobniony przez *Eych.* i *Bierbauma* był z początku ściśle krwiożądny, a dopiero po 2-miesięcznej hodowli dał się przenieść na zwykły agar bez krwi. Do względnie krwiożądnych gatunków należy, według *Adama, Bac. bifidus*, baztlenowiec, rosnący wprawdzie i bez hemoglobiny (wzgl. hematyny) najlepiej jednak w jej obecności. Stopień krwiożądności *Bact. pyocepticum* [illegible] (*Sachweh*), zarazka pomoru kurcząt, nie jest dotąd ściślej określony.

Ogólne wrażenie, jakie się wynosi z tego przeglądu grupy bakterii krwiożądnych (p. odnośny rozdział w podręczniku [illegible] i [illegible]) jest to, że mamy tu do czynienia z kilkoma zasadniczemi typami, wemi pewnym formom zakażeń, z których każdy przedstawia „plejada" gatunków, czy raczej odmian o różnym stopniu przystosowania do pewnych warunków życia pasorzytniczego i pochodzącej stąd ściślej wyłączności odżywczej. Nie jest również wykluczonem, że znamy lub poznamy jeszcze w przyszłości należące tu szczepy lub gatunki, pasorzytujące na prawidłowych błonach śluzowych, skórze i t. p., a okazujące jeszcze mniejsze wymagania odżywcze, i że w nich upatrywać będziemy gatunki macierzyste, z których, drogą przystosowania lub przemiany jakościowej (mutacji), powstały gatunki krwiożądne. Takie przypuszczenie byłoby np. możliwe co do *Streptobacillus urethrae Pfeiffera*, bardzo zbliżonego do *Bact. ulceris cancrosi*, tylko mniej wybrednego odżywczo. Być może, że takim gatunkiem jest nadzwyczaj ciekawy baztlenowiec, wyhodowany przez *Olitsky'ego* i *Gatesa* z wydzieliny nosogardłowej przy grypie, nazwany przez nich *B. pneumosintes* i wywołujący w doświadczeniach ciężkie sprawy płucne u zwierząt. Przy pierwszem wyhodowaniu rośnie on tylko w płynie puchlinowym z dodatkiem nerki króliczej (*met. Noguchi'ego*). Po dłuższem jednak hodowaniu na tem podłożu obniża swe wymogi odżywcze i może rość na zwykłym buljonie peptonowym (na wyciągu mięsnym), o ile doń dodać świeżej krwi, tkanki roślinnej (kartofla, pasternaku, rzepy) lub posiać zapomocą laseczki kartoflanej lub

b. okrężnicowych, które się następnie zabija przez ogrzanie, skoro tylko zjawi się pierwsze lekkie zmącenie buljonu.

Poza tem autorzy obserwowali także symbiozę *B. pneumosintes* z b. grypowemi, pneumokokami, paciorkowcami i gronkowcami. Mamy tu tedy dość bliską analogję z wymaganiami odżywczymi b. grypowych, odpada tylko potrzeba czynnika katalitycznego X. Do b. grybowych zbliża się *pneumosintes* także swojemi drobnemi rozmiarami: hodowle pierwotne okazują twory na granicy widzialności, przechodzące przez filtry bakteryjne— po przystosowaniu do sztucznych podłoży zjawiają się formy nieco większe, aż do 1 μ długości w podłożach buljonowych wyżej wspomnianych—jednak powrót do pożywki pierwotnej znowu ujawnia ledwie widzialne formy pierwotne. Co do mechanizmu takiego przystosowania możliwe są dwa przypuszczenia: albo, że dany gatunek przystosował się do specjalnych warunków odżywczych życia pasorzytniczego w ustroju, t. j. do barwika wyi, a możliwość życia wobec wytworów roślinnych jest tylko przypadkowo następstwem tamtego przystosowania, albo też, że dany gatunek był przystosowany do pokarmu roślinego z jego zawartością witamin [illegible] daz, i że to właśnie przystosowanie umożliwiło mu następnie [illegible] do ustroju i rozwinięcie funkcji chorobotwórczej.

[illegible] jest rzeczą, że poruszone tu zagadnienia, których opracowanie [illegible] zostało podjęte, rokują wielkie nadzieje dla rozwoju bakterjologji, [illegible] eoretycznej jak praktycznej. Wystarczy przypomnieć chroniczny [illegible] który od la[illegible] szeregu przebywa systematyka bakterjologiczna: wobec [illegible] arczających ich morfologicznych trzeba tem ściślej i gruntowniej [illegible] hy fizjolo[illegible]ne i zakres ich zmienności, aby kombinując jedne [illegible] dojść stopniowo do mniej lub więcej „naturalnego“ układu [illegible] D. m[illegible] oza tem zaś nie ulega wątpliwości, że dokładny wgląd w sprawy witamin[illegible] materji jest koniecznym warunkiem do poznania praw życia [illegible] j sprzyj[illegible] jów. Ze strony praktycznej nie potrzeba chyba podkreślać, jak [illegible] W dal[illegible] ważnym czynnikiem postępu w poznaniu wybredniejszych zarazków może się stać ułatwienie i uproszczenie metod hodowlanych i że to jest niewątpliwie jedna z dróg, wiodąca do odkrycia nieznanych dotąd zarazków lub umożliwienia hodowli znanych dotąd tylko ze strony morfologicznej. Dla przykładu wspomnę o zastosowaniu kartofla do hodowli bakteryj gruźliczych (*Pawłowski, Krompecher-Zimmermann, Sander, Lewandowsky, Rabinowicz, Jurjewicz*) i kokluszowych (*Bordet-Gengou*), dalej o znakomitych wynikach hodowli b. gruźliczych na podłożach z jajem kurzem (*Dorset, Lubenau, Krumwiede-Park, Besredka-Jupille, Petrow*). *Sanders* poleca do hodowli b. gruźliczych obok ziemniaków marchew, kalarepę, rzodkiew, *Löwenstein* płynną pożywką na wyciągu z fasoli cukrowej. Wspomnę również o całym szeregu prób hodowlanych zarazków niewidzialnych lub strojących na granicy widzialności (badacze amerykańscy, zwłaszcza *Flexner* i *Naguchi*) i krętowłosów (*Flexner, Kligler* i *Robertson*) i in. — wreszcie o wspomnianej wyżej hodowli *B. pneumosites* (*Olitsky-Gates*). Być może także, że uda się zapomocą dodatków witaminowych ułatwić i przyspieszyć hodowlę wyborową niektórych zarazków, zwłaszcza w celach rozpoznawczych. Tak np. *Leichentrett* uzyskuje na płytkach agarowych z dodat-

kiem wyciągu słodowego lub buraczanego lub zobojętnionego soku z cytryn bujny i przyspieszony wzrost b. błoniczych, podobnie jak na surowicy Loefflerowkiej. Pewien szczep gronkowców z ropienia szpikowego, który nie chciał rość na agarze zwykłym, surowiczym, krwawym, wyrósł dopiero na agarze z wymienionemi dodatkami. *Twortowi* udało się wyhodować krętowłosy z padłej myszy na stałem podłożu, zawierającem wyciąg glicerynowy z bakteryj błoniczych i jajo kurze; hodowanie ich szczepami udało się dopiero po dodaniu do tego podłoża 1% zabitych bakteryj tymotejki (B. phlei). Na podstawie tych wyników kierunku niedawno dopiero poczętego, wolno w najbliższych latach spodziewać się wydatniejszego jeszcze plonu, zarówno pod względem teorytycznym, jak praktycznym.

PIŚMIENNICTWO.

1) Abderhalden E.—Köhler A. Pflüg. Arch. 1919. CLXXV.
2) Adam A. Zschr. f. Kinderheilk. 1921. XXIX. 65—67.
3) Agulhon H.—Legroux R. Compt. Rend. Acad. Sc. 597—8.
4) Allen. Lancet. 1910. I. 1263.
5) Amand A. Cellule 1903. XX. 223.—1904. XXI. 327.
6) Ayers S. H., Mudget S. M. Proc. Soc. Amer. Bacter. D. Philadelphia. Streszcz. Abstr. of Bacter. 1922. VI. 3. № 8.
7) Ayers S. H.,—Mudget S. M. Journ. of Bacter. 1922 VII.
8) Bierry H.—Portier P. Compt. Rend. Ac. Sc. 1918. CLXV.
9) Bottomley. Proc. Roy. Soc. B. 1918. LXXXIX. 102—108.
10) Cantani A. Centralbl. f. Bakter. I A. 1897. XXII. 601—6
11) „ ibid. 1900. XXVIII. 743—747.
12) „ ibid. 1902. XXXII. 692—694.
13) „ Zschr. f. Hyg. u. Infkr. 1901. XXXVI.
14) Chambers M. H. Biolog. Bull. 1919. XXXVI. 82—91.
15) Cheekmur F. Journ. Inf. Dis. 1922. XXXI. 461—467.
16) Coles-Lloyd J. D. Journ. of Path. a. Bacter
17) Cooper. Przytoczony u Damona. „ 465.
18) Damon S. R. Journ. Biol. Chem. 1921. XLVII.
19) Davis J. A. Journ. Infect. Dis. 1907. IV. 73.
20) „ ibid. 1917. XXI. 392—178. Sect. Am
21) „ ibid. 1918. XXIII. 248—251.
22) „ ibid. 1921. XXIX. 171—178, 178—186, 187—189.
23) „ Journ. Amer. Med. Ass. 1921. LXXXVII. 683—685.
24) Devloo R. La Cellule 1906. XXIII. 359.
25) Eddy W. H.—Heft H. K.—Stevenson H. C.—Johnson R. Journ. Biol. Chem. 1921. XLVII. 249.
26) Eijkman C. von Hoogenhuijze C. J. C.—Derks T. J. G. ibid. 1922. L. 311—315.
27) Emmett A. D.—Stockholm M. ibid. 1920. XLIII. 288.
28) Fichtner. Cbl. f. Bakter. I A. Or. 1904. XXXV. 374—384.
29) Fildes P. Brit. Jour. Exper. Path. 1921. II. 16—25—1920. I. 129—130.
30) Fildes P. Brit. Journ. Exp. Med. 1922. III. 210—215.
31) Flather M. D. Biolog. Bull. 1919. XXXVI. 54—82.
32) Fleming W. D. Journ. Biol. Chem. 1921. XLIX. 119.
33) Fraenkel S.—Hager I. Biochem. Zeitsch. 1922. CXXVII. 189.

34) Fraenkel S.—Scharf A. ibid. 227.
35) Fraenkel S.—Schwarz. ibid. 1920. CXII. 203.
36) Francis E. Publ. Health. Rep. 1922. 20. I. 102.—J. Am. M. Ass. 1922. LXXVIII. № 14, 1015—1018.
37) Fulmer E. I.—Nelson V. E.—Sherwood F. F. Journ. Amer. Chem. Soc. 1921. XLIII. 126. 191.
38) Fulmer E. S.—Nelson V. E. J. Biol. Chem. 1922. LI. 77—83.
39) Funk E.—Dubin H. E. Journ. Biol. Chem. 1920. XLIV. 487.
40) „ „ ibid. 1921. XLVIII. 437.
41) Ghon A.—v. Preyss W. Centralbl. f. Bakter. I A. Or. 1902. XXXII. 90—105.
42) Goy P. Compt. Rend. Acad. Sc. 1921. CLXXII. 242.
43) „ Compt. Rend. Soc. de Biol. 1922. LXXXVII. 1007—1008.
44) Grassberger R. Cbl. f. Bakter. I A. Or. 1903. 353—Zschr. f. Hyg. u. Infkr. 1897. XXV. 453.
45) Harden A.—Zilva S. S. Biochem. Journ. 1921. XV. 438.
46) Henry I. Ann. de brass. et de distill. 1902. 129.
47) Hitchens A. P. Proc. Labor. Sect. Amer. Publ. Health. Ass. Nov. N.-York. Streszcz. Abstr. of. Bacter. 1922. VI. 35. № 93.
48) Huber. Zeitsch. f. Hyg. u. Infkr. 1893. XV.
Huntoon F. M. Journ. Infect. Dis. 1918. XXIII. 169—172.
Jacoby M.—Frankenthal K. Bioch. Zeitschr. 1921. CXXII. 100.
Jakbrenner. Cbl. f. Bakter. I A. Or. 1921. LXXXVII. 277—283.
Kligler S. Journ. Exper. Med. 1919. XXX. 31—44.
Kondo S. Tohoku Journ. Exp. Med. 1922, III. 70—74.
Kossowicz A. Zschr. f. landwirtsch. Versüchswesen Oest. 1903.
Legroux R.—Jimenez I. Compt. Rend. Ac. Sc. 1921. 19. XII.
groux R.—Mesnard. ibid. 1920. CLXX. 901—904.
ehmann K. B.—Neumann R. O. Atlas u. Grundriss der c. 6 Aufl. München. 1920 str. 265—276, 757—760.
eichentritt. Berl. Klin. Woch. 1921. № 24. 631—634.
vinthal. Zschr. f. Hyg. u. Infkr. 1918. LXXXVI.
nossier G. Compt. Rend. Soc. de Biol. 1919. LXXI. 381—384.
ibid. LXXXIII. 1920. 346—349.
D. Journ. of. Path. a. Bact. 10, 16. XXI. 113.
O. Cbl. f. Bakter. I A. Or. 1904. XXXV. 434—439.
Compt, Rend. Ac. Sc. 1920. CLXXI.
—Chapin C. W. Publ. Health. Bull. 1912. № 53.
J. Infect. Dis. 1912. X. 61—72.
ald M.—Mc Collum E. V. J. Biol. Chem. 1920. XLV. 307.
68) Mc Donald M. B. Journ. Biol. Chem. 1922. LIV. 243—249.
69) Mc Leod S. W.—Wyon G. A. J. of. Path. a. Bacter. 1921. XXIV. 205—210.
70) Meunier. Sem. méd. 1898. XVIII. 268.
71) Miller E. W. J. Biol. Chem. 1921. XLVIII. 329.
72) Mockeridge F. Proc. Roy Soc. B. 1917. LXXXIX. 508—533.
73) „ Biochem. Journ. 1920. XIV. 432.
74) Mueller I. H. Proc. Soc. Exp. Biol. Ac. Med. N.-York. 1920—21. XVIII. 14—17. 225—228.
75) Mueller I. H. Journ. of. Bacter. 1922. VII. 309—324. 325—338.
76) Nastiukow M. M. Dyss. Petersburg 1894. Streszcz. Cbl. f. Bakt. 1896. XIX. 474—481.
77) Neisser M. Deutsch. med. Woch. 1903.

pic
w
sto
tyczną: o
stymiczn
nya, nie
gandaczn
groźemi i
her niezdatny
Putnug D. m
*nel*witamin
(2 :j sprzyj
wzl W dal
ważnym c
się stać ułatwic
wątpliwie jedna z dro
lub umożliwienia hod
Dla przykładu wspom
czych (*Pawłowski*,

78) Nelson V. E.—Fulmer E. I.—Cesna R. J. Biol. Chem. 1921. XLVI. 77.
79) Olitsky P. M.—Gates F. L. J. Exper. Med. 1921. XXXIII. 125. 713.
80) „ „ J. Am. M. Ass. 1922. LXXVIII. 1020—1022.
81) Olsen O. Cbl. f. Bakter. I A. Or. 1920. LXXXV. 12—27.
82) Paccini A. I. P.—Russell D. W. J. Biol. Chem. 1918. XXXIV. 43.
83) Pfeiffer R. Zschr. f. Hyg. u. Infkr. 1892. XIII.
84) Portier P. Les symbiotes. Paris Masson. Cie. 1919.
85) „ Compt. Rend. Soc. Biol. 1919. LXXXII. 59.
86) „ —Randoin L. Compt. Rend. Ac. Sc. 1920. CLXX. 478.
87) Putnam-Gay. J. Med. Res. 1920. XLII. 1.
88) Richter. Wien. klin Wochenschr. 1894.
89) Rivers M. Journ. Am. M. Ass. 1921. LXXVI. 1744—1745.
90) „ Proc. Soc. Amer. Bacteriolog. Philadelphia. 1921. Streszcz. Abstr. of Bacteriol. 1922. VI. 3. 34.
91) Rivers M. John. Hopkins Hosp. Bull. 1922. XXXIII. 149—151.
92) „ —Poole J. K. ibid. 1921. XXXII. 202—204.
93) Sahweh P. Berl. tierärztl. Woch. 1922. III. Ref. w Bull. Inst. Past. 1922. XX. 603.
94) Sammartino U. Biochem. Ztschr. 1921. CXXV. 25.
95) Scheffer G. Bull. de l'Inst. Past. 1919. XVII. 1—21. 41—59.
96) Shearer C. Lancet 1917. CXCII. 59.
97) Souza P. G.—Mc Collum E. V. J. Biol. Chem. 1920. XLIV.
98) Swoboda F. K. ibid. 531.
99) Terada M. Kitas. Arch. Exp. Med. 1922. V. 34—67.
100) Terada M. Jap. Med. World. Tokyo. 1921. I. 8. Streszcz. A. Bauer. 1922. VI. 70. № 279.
101) Thjötta Th. J. Exp. Med. 1921. XXXIII. 763—771.
102) „ —Avery O. T. ibid. XXXIV. 96—114.
103) „ „ ibid. 455—466.
104) Tocunaga H. Deutsch. med. Woch. 1920. 1358.
105) Twort F. W.—Twort D. N. Journ. of Hyg. 1921. XX. 85.
106) „ „ Lancet 1921. 798.
107) Voges. Berl. Klin. Woch. 1894. № 38.
108) Weill E.—Arloing F.—Dufourt A. Compt. Ren. Biol. 1922. LXXXVII. 50—52.
109) Wildiers E. La Cellule 1901. XVII 313—329.
110) Williams R. I. J. Biol. Chem. 1919. XXXVIII. 465.
111) „ ibid. 1920. XLII. 259.
112) „ ibid. 1921. XLVI. 113.
113) Williams A.—Povitzky O. Proc. Labor. Sect. Am. Health. Ass. Nov, 1921. N.-York. Streszcz. Abstr. of. Bacter. 1922. VI. 34. N.
114) Williams A.—Povitzky O. Journ. Med. Research. 405—417.
115) Wolf I. E. Cbl. f. Bakter. I A. Or. 1920. LXXXIV. 241—255.
116) Wollman E. E. Compt. Rend. Soc. Biol. 1921. LXXXV. 801.
117) „ —Vagliano M. ibid. 1922. LXXXVI. 832—

REFERATY.

G. Blanc, C. Mélanidi i J Caminopetros. Badania doświadczalne nad wysypkowem schorzeniem kóz, spotykanem w Grecji. (Recherches expérimentales sur une maladie éruptive de la chévre observée en Gréce). Annales de l'Inst. Pasteur. 1922, 36, 614.

Badania autorów dotyczą wysypkowego schorzenia kóz, często spotykanego w Grecji; ludność miejscowa przyczynę tego schorzenia upatruje w spożywaniu pewnych roślin. Pod względem klinicznym choroba ta przedstawia się jako stomatitis pustulosa i peristomatitis crustacea, trwa zwykle [illegible] dnie i kończy się wyzdrowieniem. Nieznany zarazek okazał się tyznwią: o wórczym dla zwierząt doświadczalnych, przesączalnym przez filtry stymiczn przechowującym się w glicerynie. Zwierzęta, po odchorowaniu, nya, nie odporne na ponowne zakażenie. Autorzy utożsamiają obserwowane gandaczn nie z podobnem, opisanem przez *H. Zellera* (1920 r.) w Afryce Niegro emi i i i, przypuszczalnie, też z chorobą Aynaud (1921 r.). Zarazek należy her niezdatnvonie do grupy, obejmującej „krowiankę — ospę — ospę owczą" *Putrug D.* m[illegible]s du groupe vaccine — variole — clavelée).

*net*witamin[illegible]e

(2 [illegible]j sprzyj[illegible]

---

wzi W dal[illegible]esman i L. Kandiba. **O wynikach badań bakterjologicznych** waznym c[illegible] **na dur osutkowy. (Ueber dle bakteriologischen Blutbe**się stać ułatwi[illegible]**kfieberkranken) Zeitschrift f. Hyg. und Infektionskr. 1922,** wątpliwie jedn[illegible]

lub umożliwi[illegible]

[illegible]% przypadków ze krwi chorych na dur osutkowy wyosobniono Dla przyk[illegible]eztlenowy, opisany przez *Plotza* (jako zarazek duru osutkoczych (*P[illegible]* [illegible]odowle wyosobnionego prątka, zwłaszcza w pierwszem i dru-

68) M[illegible]niu, udają się tylko ściśle według metody *Plotza* — na kwaśnych

69) Mc L[illegible]ur z ascytem). Prątek ten u świnki morskiej nie wywołuje duru

205—210.

70) [illegible]o; nie jest dla niej, również jak dla królika, chorobotwórczy.

71) M[illegible]rhorzeniach prątka *Plotza* nie spostrzegano; również ze krwi świ-

72) Mo[illegible] które uprzednio zakażano krwią chorych na dur osutkowy,

73) [illegible]owano. Należy tu zaznaczyć, iż autorzy u żadnej z 22 świ-

74) Muell[illegible]ażonych nie widzieli objawów chorobowych — ani podnie-

14—17. 225—228.

75) Muelle zmian ogólnego stanu zwierząt. We krwi ozdrowieńców

76) Nastium, w 66% — 70% przypadków, autorzy znaleźli przeciw-

1896. XIX. 474—481. [illegible]et-Gengou) przeciw prątkowi *Plotza*. Jednak te same

77) Neisser wykryć w 40% przypadków u ludzi, którzy na dur osutko-

[illegible]strzyki prątków *Plotza* wprawdzie są nieszkodliwe, ale

i nie wywołują odporności na zakażenie durem osutkowym: z 145 osób personelu lekarskiego, uodpornionych tym prątkiem, zachorowało wkrótce na dur osutkowy 4 osoby, 1 zmarła. Nie można więc uważać prątków *Plotza* za zarazek duru osutkowego, najwyżej można go uważać za czynnik współzakażający.

R. Otto i C. C. Chou. O odporności zarazka duru osutkowego w mózgu świnek morskich. (Ueber die Widerstandsfähigkeit des Fleckfiebervirus im Meerschweinchengehirn). Centrbl. f. Bakt. ...ądy)... 1922, 88, 467.

Śledz...

Zarazek duru osutkowego (zawiesina mózgu świnki mor... ilość... żonej durem osutkowym) zachowuje swą zjadliwość przez pew...ych z... czas, zależny od temperatury, w której zawiesinę przecho... d... downi (około + 8° C.) do 4 dni, w poszczególnych przypa...vni... w temperaturze pokojowej (około 20° C.) — tylko 3 d... ...est... 37° C.) — traci zjadliwość już po 24 godzinach. D... surowicy świnki morskiej przedłuża ten okres przy 8 do ... 20° — do 6 dni.

Doświadczenia z odmieńcem X_{19} w zawiesinie ...rmalnym ...o-b... świnki morskiej wykazały, że zachowuje się on ir...j, niż za...que... osutkowego, zachowując dłużej zjadliwość dla św... morsk... nie traci zjadliwości jeszcze na 10 dzień, przy 20° ...owuje... 5 — 10 dniach, przy 37° nie traci zjadliwości po 3 — 5 ...dniac... nia te, również jak i to, że świnki morskie po zastrzykach za... wej, zawierającej odmieńca X_{19}, nie są odporne na zakażenie ... wym, przemawiają przeciw etjologicznemu znaczeniu odmień...

K. Sato. Badania nad działaniem leczniczej surowi... doświadczalną błonicę królików. (Untersuchungen über... Diphterie-Heilserums auf die experimentelle Kaninchen... schrift f. Immunitätsf. 1922, 34, 365.

U królików, po wykonaniu tracheotomji, przez silne wc... zówki tchawicy materjału zakażającego (szczepu prątków błon... starczającej zjadliwości), można wywołać proces błoniczy... zmianami o wielkiem podobieństwie do błonicy człowiek... błon, zaledwie nieznacznie różniących się od pseud... Sposób ten zakażania królików okazał się dość pewnym... 20 uległo zakażeniu, przeważnie po 3 — 4 dniach, u 2 — ... wątpliwe, 1 tylko oparł się zakażeniu), by zbadać przy ... cze działanie surowicy błoniczej. Protokuły autora w... Wprowadzając królikom dożylnie i śródmięśniowo ba... toksyny autor dowiódł, że nieszłusznem jest zdania ... łanie surowicy błoniczej ograniczało się do okr... było tylko zapobiegawczem. Błonica t... przez surowicę błoniczą, nawet przy...

tym okresie (8 — 12 godzin po zakażeniu), ale surowicę należy według autora stosować dożylnie lub śródmięśniowo w bardzo dużej ilości (1200—3600 J.) Z tego, że stosowana równorzędnie i w takich samych warunkach, normalna surowica końska zupełnie zawodzi, wynika, iż chodzi tu o swoiste działanie antytoksyn. Małe ilości antytoksyny (200 — 250 J.) nie okazują wyraźnego wpływu leczniczego: nie są więc istotnie bardziej czynne od normalnej surowicy końskiej. Autor wspomina w końcu, że, z przerachowania dawek leczniczych surowicy u królików na wagę ciała, możnaby wnioskować, iż dawki antytoksyny, stosowane u człowieka, często są

G. P

---

nad wysyp... i G. Loiseau. **Odczyn podłoża a wydajność toksyny błoniexpérimenta... on du milieu et production de la toxine diphtérique).** Annales de l'... Pasteur, 1922, **36**, 535.

Badania ...steurowski w Paryżu stale używa podłoża Martin'a o odnego w Grecji; luc... między Ph 7,5 — 7,9; otrzymana (bardzo równow spożywaniu ...yna, w d... e 1/700 ccm., zabija przeciętnie świnkę morską, ... się 350 gr., po 4 ...ch. Toksyny, tej samej siły i w tym samym okreryżnne... sod., otrzymuje s... jeśli odczyn podłoża wynosi początkowo Ph 6,8 aż tyznvią: o wówczas więc... dawka śmiertelna jest prawie ta sama 7-go dnia stymiczn... przecz... ej Ph... 6,6 lub poniżej 6,8 siła toksyny znacznie słabnie; nya, nie... odporn... atko... odczynie podłoża, wynoszącym Ph. 5,8 do 6,1 gandaczn... nie z pod... ...ccm. ...ie zabija po 4 dniach świnki morskiej. gro...emi i... i, przy... ...aźnie kwasowy lub zasadowy, źle wpływa na przechowywaher niezdatn... Nie wyjaśnia to jednak spostrzeżonego faktu, że na podło- *Putnug D.* m... ...kowym odczynie zbyt kwasowym, chociaż po 2 lub 3 dniach *nel*witamin... ...oża odpowiada już wymaganym warunkom (Ph wynosi 6,8 (2 ...j sprzyj... ...ny nie wytwarzają się. wz... W da... waznym c... ...dłoża Martin'a, w pierwszych dniach hodowli, zależy od się stać ułatwi... początkowy utrzymywał się poniżej lub powyżej Ph. 7,3— wątpliwie jedn... przypadku staje się on zasadowym, w drugim staje lub umożliwi... ...ednak po 4 dniach, nieco później w podłożu bardziej za- Dla przyk... ...ywe odczynu prawie że się stykają. czych (*P...* ...ezt

---

68) M... ...

69) M... **O odczynie tkankowym i wytwarzaniu antytoksyn u koni** 205—210. ...ołuc toksyny błoniczej. (Ueber die Gewebsreaktion und

70) ...; nie... ...i **Pferden nach Intrapulmonaren Injektionen von**

71) M... ...horz... ...tschr. f. Immun. 1922, **34**, 424.

72) M... ...

73) ... badania nad 7 końmi, otrzymującemi zastrzyki do

74) M u e l l ...podskórnie i domięśniowo i nad jednym (kontrolnym), 14—17. 225—228. ...a podskórnie. Czterokrotna dawka śmiertelna toksyny,

75) M u e l l e ...utora, wahała się między 0,005 — 0,01 dla 250 —

76) N a s t i u k, ... Wyniki pracy są następujące. Zmiany 1896. XIX. 474—481. ...et-Ger... ... zastrzyki toksyny błoniczej, polegają

77) N e i s s e r ... wykryć w 40... ...m zapaleniu, z mniej lub więcej sil- ...strzyki prątków.

i krwawemi. Bardzo silnych zmian zwyrodnienia, opisanych , który stosował toksynę stężoną—nie widziano. Autor przy- ne ogniska martwicze na miejscach wczesnych zastrzy- uodpornianych, zabliźniły się i dla tego nie można ich ć antytoksyny w wewnętrznych narządach (w płucach, ie, nerkach, nadnerczach) u koni wysoko-uodpornionych do płuc zawsze jest mniejsza, niż w surowicy krwi i jest za- od zawartości krwi w danym narządzie, przyczem we krwi tętniczej jest większa niż w żylnej. Uszkodzone przez zastrzyki miejsca płuc często zawierają bardzo znaczne ilości antytoksyny (więcej niż inne narządy); pewnego stopnia zależy to od rozległych wylewów krwawych. Śledz (w danym okresie uodpornienia) zawiera jedynie bardzo małe ilo toksyny, mniejsze niż inne narządy. Tak więc autor niema żadnych któreby przemawiały za tem, iż płuca, po zastrzyku toksyny d głównem miejscem wytwarzania antytoksyny. Bardziej uprawni się być przypuszczenie, iż wytwarzanie antytoksyny jest całego organizmu.

J. E. Dauvergne. Prątek błoniczy i bakterje rzekomo-bł cechy różniczkowe — rozpoznanie. (Le bacille diphtérique bactéries diphterimorphes, caractères différentieles — di d'Hygiene, 1922, 44, 826.

Lasecznik błonicy (*bac. Klebs — Löffler*) — *teriae (Löffler)*, w celu lekarskiego rozpoznania, następujących trzech roztoczy: 1) *Corynebac tin (Bac. Hoffman, Bac. pseudodiphteriae)* — i nosie. 2) *Corynebacterium xerosis, Neisser* który znajduje się w worku spojówkowym według nomenklatury autora (*Bac. cutis co diphtericus Lubiński*), znajdowany na s w gardle. Zróżniczkowanie czterech tyc bie wzrastania na głębokim agarze (*L* rzaniu kwasów kosztem cukrów i węgl hemolitycznych (*Costa, Troisier i Da*

Cavaillon i Wibaud. Walka epidemją w departamencie Aisne terie bacillaire. Etude d'une epi 1921) Revue d'Hyg. 1922, 44,

Czerwonka bakteryjna w wielkich, trzech pomniejszych sobnionych. Wszystkie te p z wyjątkiem jednego, wywo

Środki, przedsięwzi rezultat ten wszędzie osi

pierwsze przypadki czerwonki. Otrzymane wyniki przemawiają należy według pojedyńczy przypadek czerwonki bakteryjnej nie wywołuje ilości (1200— istniejącą epidemję można zwalczyć szybko, uwzględniamych warunkach, warunki. 1) Konieczność zgłaszania przez lekarzy pierchodzi tu o swoiste i nadzór nad każdym ogniskiem, wykonywany prze250 J.) nie okazują 2) Stosowanie zwykłych klasycznych środków dezynfekcyjnej czynne od petentną obsługę, wyposażoną w wystarczającą ilość potrzebnyc rerachołów. 3) Stosowanie seroterapji leczniczej i ochronnej. U wszystkich osoby ników, wchodzących w styczność z chorymi, zastępowano seroterapię hronną uodpornianiem szczepionką przeciwczerwonkową z wynikami onałemi.

---

nad w
expérin

Annales Nicolle i E. Conseil. Uodpornianie ochronne człowieka prze-
yonce bakteryjnej i gorączce maltańskiej drogą pokarmową.
nego ons préventives par voie digestive chez l'homme dans la dy-
w sp e bacillaire et la fievre méditeranéenne). Annales Pasteur. 1922,
XVI, 59.

Niniejsza praca dowodzi możności uodporniania człowieka drogą tyzuje: du pokarmowego: doświadczenia autorów dotyczą tylko czerwonki stymiczn j (*Shiga*) i gorączki maltańskiej. Pierwsza jest, zdaniem autonya, nie odpor le umiejscowioną, mianowicie schorzeniem jelita grubego, gandaczn nie z pod tańską jest posocznicą, niema tu więc miejsca na przygro emi i i, przy ym przypadku w wytwarzaniu przeciwciał odgryher niezdatny. Nie wyjaśnie kwestję otrzymanie wyników dodatnich w obu schorze- *Putug D.* m ogólniejsze,—przemawia za możnością uodpornetwitamin kowym odczynie nym, durach wrzekomych, cholerze i t. p. Co (2 j sprzyj ża odpowiada j autorzy dowiedli, że przeciwko niej również wz ny nie wytwarzają ogą *per os*, jak i podskórnemi zastrzykami W dal dłoża Martin'a, w c do czerwonki bakteryjnej, autorzy prze- waznym c się stać ułatwi początkowy utrzymiernie ciekawe spostrzeżenia *Besredki* wątpliwie jedn przypadku staje wyświetlają jeszcze kwestji, gdyż miarolub umożliwi ednak po 4 dniach, m samym gatunkiem. *N.* i *C.* przeko- Dla przyk we odczynu prawie że asa może tu odgrywać poważną rolę: czych (*P.* ezt li się odpornymi na zakażenie czer-

68) M wdopodobnie dzięki piciu brudnej,
69) M c **O odczynie tkankowym** wody). Musiano więc czynić do-
205—210. **wołuc toksyny błoniczej.** la prątka czerwonkowego powinna
70) Mo; nie **Pferden nach Int.** nie jadowitość) hodowli starych
71) M horz tschr. f. Immun. 1922, skórne i domięśniowe wywołują
72) M ki badania nad 7 końmi, wlewaniami dożylnemi wywo-
73) M odskórnie i domięśniowo doskonale, bez niepożądanych
74) M u e l l a podskórnie. Czterokrotna te prątki *Shiga*. Autorzy sto-
14—17. 225—228. utora, wahała się między . Ostateczne doświadczenie
75) M u e l l e Wyniki pracy s uodpornianych. Dwaj pier-
76) N a s t i u m, wa
1896. XIX. 474—481. et-Ge li zastrzyki toksj ostatni zapadli na typową
77) N e i s s e r wykryć w 40% em zapaleniu,ego wytwarzania aglutystrzyki prątków

dporności, ani też najmniejszej uodporniającej dawki szcze-
odobnie daleko mniejszej od stosowanej przez autorów)
eślali.

Gastinel, J. Reilly, Rivalier. **Przyczynek do studjów
ozą z powodu przypadku Pasteurellozy u człowieka (Con-
n à l'étude des Pasteurelloses à propos d'un cas de Pasteurellose
umaine). Journ. de Phys. et de Path. Gen., 1922, 20, 212, i 241.**

Przypadek, zbadany przez autorów, wraz z opisanym poprzednio przez *Debré* (1919) i *Ortscheidta*, potwierdza istnienie w patologji człowieka każenia, wywołanego przez *Pasteurellae*, do niedawna znanego jed w patologji zwierząt. W trzech wspomnianych przypadkach (w prz opisanym przez autorów podczas autopsji znaleziono między obfity zakrzep w lewem sercu) — Pasteurelloza przebiegała jak nie miejscowe, szczególniej porażające opłucną. Jest to obraz różny od posocznicy, obserwowanej u zwierząt, z maximum zm nach surowiczych i w tkance podskórnej, jedynie bowien. P u królika, według *Nicollea*, przebiegać może z zapaleniami opłu posocznicy. W 1918 r. *W. von Boer* opisał przypadek jelitowega człowieka zarazkiem cholery kury, a *Commes* w 1918 i *G.* w 1921 opisali pyomyositis, Pasteurellozę w Afryce (Bamako).

Dane hodowlane i serologiczne, oraz doświadczenia własnościami antygenowemi zarazka wyosobnio wego, *Coccobacillus G.* i zarazków cholery kury pozwalają autorom umieścić *Coccobacillus G.* Przeszczep na człowieka nie zmienia własności Pewne morfologiczne i biologiczne różnice, *bacillus G.* a *Pasteurellami*, wyosobnionemi zwalają przypuszczać, że człowiek może *Pasteurellae*, istniejącemi w przyrodzie. zdania *Chamberlanda* i *Jouana*, iż zasad gólnemi rasami *Pasteurellae* niema. R (zjadliwość) względem zwierząt, na kt przeszczepów można szczep *Pasteure* dliwy, uczynić dla niego zjadliwym. świnek morskich zjadliwej hodowli doświadczalne prawie bez wyjątku wano pewne ostrożności, ogólneg do odczynu miejscowego, jako t a potem ogólnej odporności i ni nionej świnki morskiej, autorz wnych warunkach skóra bier organizm nabywa odporno odporności humoralnej. 2) runkach, jeśli tylko nask własności chorobotwórcz

A. Schnabel. Badania nad nadwrażliwością śród bal[należy według] Empfindlichkeitsversuche an Bakterien). Zeitschr. f. Hyg[ej ilości (1200—] 1922, **96**, 351.

[amych warunkach,

Autor wychodzi z założenia, iż, jeśli wogóle możl[chodzi tu o swoiste] wywołanie nadwrażliwości na działanie pewnych sub[250 J.) nie okazują] otrzymać już w zwykłych jednodniowych hodowlach, bo[dziej czynne od] nie nadwrażliwość i przyzwyczajenie do trucizny w ścisłym st[przerachowa] a przecie to drugie zjawia się już po parogodzinnem działaniu jadu [aby] cizny). Wrażliwość badanych hodowli określano (redukcja) zapomocą metody z użyciem błękitu metylowego. Z bakteryj używano: pneumokoków, [kowców], bakteryj czerwonkowych i prątków okrężnicy. Do doświadczeń [wano]: optochinę, sublimat, formalinę, chininę, fenol i azotan srebra.

nad [W hodowlach buljonowych pneumokoków (z dodatkiem optochiny),
expéri[dzinnem przebywaniu w t. 37° C., zauważono, zależnie od stężenia
Annales [następujące różnice. Hodowle, wzrastające przy wysokiem stę-

Bada[około 1 : 500000), stają się oporne, natomiast hodowle ze
nego [zasadniy nieznacznem (1 : 5 aż do 1 : 30 miljonów) są na ten
w s[ian na więcej nadwrażliwe. W pewnych tylko wypadkach nad-
VI, [steur
[nie jest swoista i nadwrażliwe na optochinę pneumokoki oka-
ryzynne [również do pewnego stopnia nadwrażliwemi na (chemicznie zbli-
tyzrwią: o[nię. W największych stężeniach optochiny hodowane pneumo-
stymiczn[ania się wysoką wrażliwością na tę truciznę, ale nie noszącą
nya, nie[odporn[, swoistości: chodzi tu prawdopodobnie o nieswoiste
gandaczn[nie z pod[
gro[emi i i, przy[ażnie kw[dowane w różnych stężeniach formaldehydu, wy-
her niezdatny[. Nie wyjaśnopniu wrażliwość na tę truciznę. Rozcieńczenie
Putrug D. m[kowym odczyni[320000 wywołuje nadwrażliwość; niezupełnie
*nel*witamin[ża odpowiada jakoki okazują się nadwrażliwemi i na opto-
(2 [j sprzyj[ny nie wytwarzają.
wz[W dal[
[ważnym c[odłoża Martina, chowują się gronkowce, hodowane na po-
się stać ułatw[początkowy utrzy]gronkowce, nadwrażliwe na sublimat, są
wątpliwie jedn[przypadku staje mniej, i na $AgNO_3$ (ale nie na fenol lub
lub umożliwi[jednak po 4 dniach, rolę bliski pod względem chemicznym
Dla przyk[ywe odczynu prawie że jako soli metali. Mniej pomyślne
czych (*P*[rupy czerwonki i okrężnicy. Jednak
[agnąć nadwrażliwość swoistą wobec

68) M[
69) M[**O odczynie tkankowym** również próby przyzwyczajenia do
205—210. [toksyny błoniczej.] [lowalających rezultatów. Jednak
70) [nie] **Pferden nach In**[wywoływania nadwrażliwości, nie
71) M[tschr. f. Immun. 1922,
72) M[
73) [badania nad 7 końmi]wrażliwość w pasażach na po-
74) M[podskórnie i domięśniowo]nie, że nadwrażliwe bakterje
14—17. 225—228. [podskórnie. Czterokrotna]dłożach toksycznych) utra-
75) M[utora, wahała się między]nie, oporności. Przemawia
76) N[Wyniki pracy s]rażliwością a przyzwycza-
1896. XIX. 474—481. [et-Ge[zastrzyki toks]aśnienie tych zjawisk na-
77) N[wykryć w 40% [zapaleniu,]rzytem również stężenia
[strzyki prątków.